

AUS DEM MED. ZENTRUM FÜR NUKLEARMEDIZIN
GESCHÄFTSFÜHRENDER DIREKTOR: PROF. DR. MED. T. M. BEHR
DES FACHBEREICHS MEDIZIN DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG
IN ZUSAMMENARBEIT MIT DEM UNIVERSITÄTSKLINIKUM GIESSEN UND
MARBURG GMBH, STANDORT MARBURG

Quantifizierung eines hochauflösenden Einzelphotonemissionstomographen

INAUGURAL-DISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES
DOKTORGRADES DER GESAMTEN MEDIZIN DEM FACHBEREICH
MEDIZIN DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG

vorgelegt von Daniela Kuhnt
aus Heidelberg

Marburg, 2006

Angenommen vom
Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg am 07.09.2006
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. med. B. Maisch
Referent: Prof. Dr. T. Behr
Korreferent: Prof. Dr. U. Klingmüller

Inhaltsverzeichnis

- 1. Einführung
 - 1.1. Molekulare Bildgebung
 - 1.1.1. Allgemeine Zielsetzungen der Molekularen Bildgebung
 - 1.1.2. Vorteile und Nachteile gegenüber bisher gebräuchlichen in-vitro-Methoden
 - 1.1.3. Techniken der Molekularen Bildgebung
 - 1.2. Einführung in die bisher gebräuchlichen Methoden der Molekularen Bildgebung
 - 1.2.1. SPECT
 - 1.2.1.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.1.2. Nuklide und deren spezifische Anwendungsgebiete
 - 1.2.1.2.1. *Peptidrezeptor-SPECT*
 - 1.2.1.2.2. *Imaging des Dopamintransporters und des D2-Dopaminrezeptors*
 - 1.2.1.2.3. *Benzodiazepinanaloga*
 - 1.2.1.2.4. *Imaging apoptotischer Zellen*
 - 1.2.1.2.5. *mRNA-Imaging*
 - 1.2.1.2.6. *Imaging des Natrium-Iodid-Symporters (hNIS)*
 - 1.2.1.2.7. *Herpes-Virus-1-Thymidinkinase (HSV1-tk) als in-vivo-Reportergen*
 - 1.2.1.3. Neuerungen
 - 1.2.2. PET
 - 1.2.2.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.2.2. Nuklide und deren spezifische Anwendungsgebiete
 - 1.2.2.2.1. *Fluorodesoxyglucose (FDG)*
 - 1.2.2.2.2. *Herpes-Virus-1-Thymidinkinase (HSV1-tk) als in-vivo-Reportergen*
 - 1.2.2.2.3. *Dopamin-D2-Rezeptor-Imaging*
 - 1.2.2.2.4. *Somatostatinanaloga*
 - 1.2.2.2.5. *Thymidinanaloga*
 - 1.2.2.2.6. *Cholinanaloga*
 - 1.2.2.3. Neuerungen
 - 1.2.3. Biolumineszenz
 - 1.2.3.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.3.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Luciferase als Reportergen
 - 1.2.3.2.1. *Tumorzell-Imaging*
 - 1.2.3.2.2. *Molekulare Bildgebung von Immunzellen*
 - 1.2.3.3. Neuerungen
 - 1.2.4. Fluoreszenz
 - 1.2.4.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.4.2. Spezifische Anwendungsgebiete der unterschiedlichen Photosensitizer
 - 1.2.4.2.1. *GFP*
 - 1.2.4.2.2. *Protoporphyrin IX (Pp IX)*
 - 1.2.4.3. Neuerungen

- 1.2.5. **Magnetresonanztomographie – MRT**
 - 1.2.5.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.5.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Kontrastmittel
 - 1.2.5.2.1. *Molekulare Bildgebung des $\alpha_v\beta_3$ -Integrins*
 - 1.2.5.2.2. *Darstellung maligner Prozesse durch niedermolekulare oder hochmolekulare Kontrastmittel*
 - 1.2.5.2.3. *BOLD (blood oxygenation level dependent imaging)*
 - 1.2.5.2.4. *Tumordarstellung mit Hilfe des Transferrinrezeptors*
 - 1.2.5.3. Neuerungen
 - 1.2.5.3.1. *Technische Neuerungen*
 - 1.2.5.3.2. *Neuerungen auf dem Gebiet der Kontrastmittel*
- 1.2.6. **Computertomographie – CT**
 - 1.2.6.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.6.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Computertomographie als Methode der Molekularen Bildgebung
 - 1.2.6.2.1. *Iodmarkierte Carboanhydrate*
 - 1.2.6.2.2. *Weitere Kontrastmittel*
 - 1.2.6.2.3. *Molekulare Bildgebung ohne Anwendung von Kontrastmitteln*
 - 1.2.6.3. Neuerungen
- 1.2.7. **Ultraschall**
 - 1.2.7.1. Definition und allgemeine Grundsätze
 - 1.2.7.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Mikrobläschen
 - 1.2.7.2.1. *Darstellung der Mikrozirkulation*
 - 1.2.7.2.2. *Thrombusdetektion*
 - 1.2.7.2.3. *Darstellung von Entzündungsherden*
 - 1.2.7.3. Neuerungen
- 2. **Zielstellung**
- 3. **Material und Methodik**
 - 3.1. **Bezugsquellennachweis**
 - 3.1.1. Chemikalien
 - 3.1.2. Radiochemikalien
 - 3.1.3. Reagenzien und Verbrauchsmaterial
 - 3.1.4. Geräte
 - 3.1.5. Versuchstiere
 - 3.1.6. Anästhetika
 - 3.1.7. In-vitro-Modelle
 - 3.1.8. Software

3.2.	Versuchsanordnungen
3.2.1.	Kamerasystem
3.2.1.1.	e-cam
3.2.1.2.	Kollimatoren
3.2.2.	In-vitro-Versuche
3.2.2.1.	Phantome
3.2.2.2.	Versuchsaufbauten der in-vitro-Versuche
3.2.3.	In-vivo-Versuche
3.2.3.1.	Versuchsaufbauten des Tiermodells
3.2.3.2.	Genehmigung der Tierversuche
3.2.3.3.	Tierspezies und Tierhaltung
3.2.4.	Versuchsprotokoll: Anlage 1
3.3.	Auswertung
3.3.1.	Software, Rekonstruktion und ROIs
3.3.2.	Berechnungen und mathematische Formeln
4.	Ergebnisse
4.1.	Skalierungsfaktoren
4.1.1.	99m-Tc
4.1.1.1.	Tabellarische Darstellung des Ergebnisses
4.1.1.2.	Berechnung des Skalierungsfaktors
4.1.2.	111-In
4.1.2.1.	Tabellarische Darstellung des Ergebnisses
4.1.2.2.	Berechnung des Skalierungsfaktors
4.2.	In-vitro-Versuche
4.2.1.	Versuch 1
4.2.1.1.	Versuchsbeschreibung
4.2.1.2.	Tabellarische Darstellung der Ergebnisse
4.2.1.3.	Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms
4.2.1.4.	Graphische Darstellung des Ergebnisses und der Soll-, Istwert- Abweichung
4.2.2.	Versuch 2
4.2.2.1.	Versuchsbeschreibung
4.2.2.2.	Tabellarische Darstellung der Ergebnisse
4.2.2.3.	Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms
4.2.2.4.	Graphische Darstellung des Ergebnisses und der Soll-, Istwert- Abweichung
4.2.3.	Versuch 3
4.2.3.1.	Versuchsbeschreibung
4.2.3.2.	Tabellarische Darstellung der Ergebnisse
4.2.3.3.	Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms
4.2.3.4.	Graphische Darstellung des Ergebnisses und der Soll-, Istwert-Abweichung

- 4.2.4. Versuch 4
 - 4.2.4.1. Versuchsbeschreibung
 - 4.2.4.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse
 - 4.2.4.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms
 - 4.2.4.4. Graphische Darstellung des Ergebnisses und der Soll-, Istwert-Abweichung
- 4.2.5. Versuch 5
 - 4.2.5.1. Versuchsbeschreibung
 - 4.2.5.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse
 - 4.2.5.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms
 - 4.2.5.4. Graphische Darstellung des Ergebnisses und der Soll-, Istwert-Abweichung
- 4.3. In-vivo-Versuche
 - 4.3.1. Versuch 1
 - 4.3.1.1. Versuchsbeschreibung
 - 4.3.1.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der Gammacounter-Messung (Sollwerte)
 - 4.3.1.3. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte)
 - 4.3.1.4. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse und der Soll-, Istwert-Abweichung
 - 4.3.1.5. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung der Mäusenieren
 - 4.3.1.6. Graphische Darstellung der Ergebnisse
 - 4.3.2. Versuch 2
 - 4.3.2.1. Versuchsbeschreibung
 - 4.3.2.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der Gammacounter-Messung (Sollwerte)
 - 4.3.2.3. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte)
 - 4.3.2.4. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse und der Soll-, Istwert- Abweichung
 - 4.3.2.5. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung der Maus
 - 4.3.2.6. Graphische Darstellung der Ergebnisse
- 5. Diskussion
 - 5.1. Quantifizierung mit Hilfe nuklearmedizinischer Methoden
 - 5.2. Quantifizierung von SPECT-Aufnahmen
 - 5.3. Diskussion der Ergebnisse
 - 5.3.1. In-vitro-Versuche
 - 5.3.1.1. Relative Quantifizierung
 - 5.3.1.2. Absolute Quantifizierung
 - 5.3.2. In-vivo-Versuche

5.4.	Diskussion der Fehlerquellen
5.4.1.	allgemeine Fehlerquellen
5.4.1.1.	Messungenauigkeit des Aktivimeters
5.4.1.1.1.	<i>Tabellarische Darstellung der Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe</i>
5.4.1.1.2.	<i>Graphische Darstellung der Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe</i>
5.4.1.2.	Manuelle Erstellung der Regions of Interest
5.4.1.3.	Rekonstruktion
5.4.1.3.1.	<i>Exemplarischer Mechanismus der Rekonstruktion von SPECT-Daten: Anlage 2</i>
5.4.1.4.	E-cam und Detektorsystem
5.4.1.5.	In-vivo-Versuchsanordnung
5.4.2.	Spezifische Fehlerquellen
5.4.2.1.	Geringe Aktivitätskonzentrationen
5.4.2.1.1.	<i>Graphische Darstellung der Ergebnisse Versuch 5 mittels Fehlerbalken</i>
5.4.2.2.	Partialvolumeneffekt
5.4.2.3.	In-vivo-Versuchsanordnungen
5.4.2.3.1.	<i>Versuch 1</i>
5.4.2.3.1.1.	<i>Exemplarische Auswertung einer Gammacounter-Messung: Anlage 3</i>
5.4.2.3.2.	<i>Versuch 2</i>
5.5.	Ausblick
6.	Zusammenfassung
7.	Literaturverzeichnis
8.	Anlagen
8.1	Anlage 1: Exemplarischer Vordruck der Dokumentation der SPECT-Untersuchung
8.2.	Anlage 2: Exemplarischer Ablauf der Datenrekonstruktion
8.3.	Anlage 3: Exemplarische Auswertung einer Gammacounter-Messung

Tabellenverzeichnis:

Tab. 1:	SPECT-Nuklide und deren Eigenschaften	Seite 14
Tab. 2:	Acquisition Parameters SPECT/ whole body SPECT (32,42)	Seite 40
Tab. 3:	Charakteristika der einzelnen Aperturen (32)	Seite 41
Tab. 4:	Aktivitätskonzentrationen Versuch 1	Seite 48
Tab. 5:	Aktivitätskonzentrationen Versuch 2	Seite 48
Tab. 6:	Aktivitätskonzentrationen Versuch 3	Seite 48
Tab. 7:	Aktivitätskonzentrationen Versuch 4	Seite 49
Tab. 8:	Aktivitätskonzentrationen Versuch 5	Seite 50
Tab. 9:	Skalierungsfaktor 99m-Tc	Seite 54
Tab.10:	Skalierungsfaktor 111-In	Seite 54
Tab.11:	Ergebnisse Versuch 1	Seite 55
Tab.12:	Ergebnisse Versuch 2	Seite 57
Tab.13:	Ergebnisse Versuch 3, bei Anlage der A: ROIs im inneren homogenen Bereich der Kammern	Seite 58
Tab.14:	Ergebnisse Versuch 3, bei Anlage der B: ROIs am äußeren Rand der Kammern	Seite 59
Tab.15:	Ergebnisse Versuch 4	Seite 61
Tab.16:	Ergebnisse Versuch 5, bei A: Messung mit 30 kcts/view	Seite 63
Tab.17:	Ergebnisse Versuch 5, bei B: Messung mit 60 kcts/view	Seite 64
Tab.18:	Ergebnisse Versuch 5, bei C: Messung mit 600 kcts/view	Seite 64
Tab.19:	Ergebnisse der Gammacounter-Messung (Sollwerte), in-vivo-Versuch 1	Seite 69
Tab.20:	Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte), in-vivo-Versuch 1 A: ROIs randständig über den Nieren	Seite 69
Tab. 21:	Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte), in-vivo-Versuch 1 B: ROIs lokal über dem Nierenparenchym	Seite 69
Tab. 22:	Ergebnisse und Soll-, Istwert-Abweichung, in-vivo-Versuch 1 A: ROIs randständig über den Nieren	Seite 70
Tab.23:	Ergebnisse und Soll-, Istwert-Abweichung, in-vivo-Versuch 1 B: ROIs lokal über dem Nierenparenchym	Seite 70
Tab.24:	Ergebnisse der Gammacounter-Messung (Sollwerte), in-vivo-Versuch 2	Seite 72
Tab.25:	Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte), in-vivo-Versuch 2	Seite 72
Tab.26:	Ergebnisse und Soll-, Istwert-Abweichung, in-vivo-Versuch 2	Seite 72
Tab.27:	A: Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe (5ml Spritze: Füllhöhe 0,5 cm)	Seite 78
Tab.28:	B: Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe (5ml Spritze mit aufgesetzter Nadel)	Seite 78

Abbildungsverzeichnis:

Abb. 1:	Schematischer Aufbau einer Gammakamera (35)	Seite 14
Abb. 2:	Illustration einer Pinhole-SPECT Aufnahme (35)	Seite 14
Abb. 3:	Schematische Darstellung einer SPECT-Kamera mit Detektoren (35)	Seite 15
Abb. 4:	Schematischer Aufbau eines PET-Scanners (35)	Seite 19
Abb. 5:	Siemens e-cam (42)	Seite 40
Abb. 6:	Abbildungsgeometrie eines Multipinhole-Kollimators (34)	Seite 41
Abb. 7:	Photographische Abbildung Apertur 1	Seite 41
Abb. 8:	Schematische Abbildung Apertur 1	Seite 41
Abb. 9:	Schematische Abbildung Apertur 2	Seite 42
Abb.10:	Überlappungsschema Apertur 2	Seite 42
Abb.11:	Schematische Abbildung Apertur 8	Seite 42
Abb.12:	Überlappungsschema Apertur 8	Seite 42
Abb. 13	Schemazeichnung Vierkammerphantom, Vertikalschnitt	Seite 43
Abb.14:	Photographische Abbildung Vierkammerphantom, Seitenansicht	Seite 43
Abb. 15	Schemazeichnung Vierkammerphantom, Horizontalschnitt	Seite 43
Abb.16:	Photographische Abbildung Vierkammerphantom, Aufsicht	Seite 43
Abb.17:	Schemazeichnung Vierkammer-Tortenphantom, Vertikalschnitt	Seite 44
Abb.18:	Photographische Abbildung Vierkammer-Tortenphantom, Seitenansicht	Seite 44
Abb.19:	Schemazeichnung Vierkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt	Seite 44
Abb.20:	Photographische Abbildung Vierkammer-Tortenphantom, Aufsicht	Seite 44
Abb.21:	Schemazeichnung Achtkammer-Tortenphantom, Vertikalschnitt	Seite 45
Abb.22:	Photographische Abbildung Achtkammer-Tortenphantom, Seitenansicht	Seite 45
Abb.23:	Schemazeichnung Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt	Seite 45
Abb.24:	Photographische Abbildung Achtkammer-Tortenphantom, Aufsicht	Seite 45
Abb.25:	Schemazeichnung Leerzylinderphantom, Vertikalschnitt	Seite 46
Abb.26:	Photographische Abbildung Leerzylinderphantom, Seitenansicht	Seite 46
Abb.27:	Schemazeichnung Leerzylinderphantom, Horizontalschnitt	Seite 46
Abb.28:	Photographische Abbildung Leerzylinderphantom, Aufsicht	Seite 46
Abb.29:	Schemazeichnung Jaszczak-Phantom, Vertikalschnitt	Seite 47
Abb.30:	Photographische Abbildung Jaszczak-Phantom, Seitenansicht	Seite 47
Abb.31:	Schemazeichnung Jaszczak-Phantom, Horizontalschnitt	Seite 47
Abb.32:	Photographische Abbildung Jaszczak-Phantom, Aufsicht	Seite 47
Abb.33:	Vierkammerphantom, Horizontalschnitt	Seite 56
Abb.34:	Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 1	Seite 56
Abb.35:	Jaszczak-Phantom, Horizontalschnitt	Seite 57

Abb.36:	Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 2	Seite 57
Abb.37:	Vierkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt	Seite 59
Abb.38:	Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 3 A: ROIs gelegen im inneren homogenen Bereich der Kammern	Seite 59
Abb.39:	Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 3 ROIs gelegen am äußeren Rand der Kammern	Seite 60
Abb.40:	Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit höheren Aktivitätskonzentrationen	Seite 61
Abb.41:	Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigeren Aktivitätskonzentrationen	Seite 61
Abb.42:	Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 4	Seite 62
Abb.43:	A: Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit hohen Aktivitätskonzentrationen (30 kcts/view)	Seite 65
Abb.44:	A: Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigen Aktivitätskonzentrationen (30 kcts/view)	Seite 65
Abb.45:	B: Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit hohen Aktivitätskonzentrationen (60 kcts/view)	Seite 65
Abb.46:	B: Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigen Aktivitätskonzentrationen (60 kcts/view)	Seite 65
Abb.47:	C: Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit hohen Aktivitätskonzentrationen (600 kcts/view)	Seite 65
Abb.48:	C: Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigen Aktivitätskonzentrationen (600 kcts/view)	Seite 65
Abb.49:	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 5, A: Messung mit 30 kcts/view	Seite 66
Abb.50:	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 5, B: Messung mit 60 kcts/view	Seite 66
Abb.51:	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Soll-, Istwert-Abweichung, Versuch 5, C: Messung mit 600 kcts/view	Seite 67
Abb.52:	Horizontalschnitt durch die Nieren des Versuchstieres	Seite 70
Abb.53:	Graphische Darstellung der Ergebnisse, in-vivo-Versuch 1, A: ROIs randständig über den Nieren	Seite 71
Abb.54:	Graphische Darstellung der Ergebnisse, in-vivo-Versuch 1 B: ROIs lokal über dem Nierenparenchym	Seite 71
Abb.55:	Horizontalschnitt durch das Versuchstier	Seite 73
Abb.56:	Ausschnittvergrößerung Horizontalschnitt durch Nieren und Tumor des Versuchstieres	Seite 73
Abb.57:	Graphische Darstellung der Ergebnisse, in-vivo-Versuch 2	Seite 73
Abb.58:	A: Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe (5-ml-Spritze: Füllhöhe 0,5 cm)	Seite 79
Abb.59:	B: Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe (5-ml-Spritze mit aufgesetzter Nadel)	Seite 79
Abb.60:	Fehlerbalken	Seite 82

1 Einführung

1.1. Molekulare Bildgebung

Seit der Entdeckung der Röntgenstrahlung durch *Wilhelm Conrad Roentgen im Jahre 1895* konnten erstaunliche Entwicklungen auf dem Gebiet der anatomischen Darstellung erzielt werden. Für noch ca. 50 Jahre allerdings sollte die konventionelle Röntgendiagnostik das Gebiet der bildgebenden anatomischen Diagnostik beherrschen. Erst Mitte des 20. Jahrhunderts fanden neue Untersuchungstechniken Einzug in diese Domäne.

Wegweisend im Fachbereich Nuklearmedizin waren die Entwicklung des SPECT („Single Photon Emission Computerized Tomography“), sowie des PET („Positron Emission Tomography“). Den Grundstein für die Entwicklung des SPECT legte *Anger Ende der 50er Jahre* mit der Entwicklung der Gammakamera (1). Aus heutiger Sicht wird das Jahr 1963 für die erstmals gelungene tomographische Darstellung mittels einer um den Patienten rotierenden Gammakamera (21) und somit der ersten Einzelphotontomographie datiert. Durch konsequente Weiterentwicklung sind heute moderne Mehrkopfsysteme in der klinischen Diagnostik gebräuchlich. Ein neuer Fokus ist die Entwicklung hochauflösender Systeme zur Darstellung kleiner Objekte. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden einerseits Gammakameras mit Pinhole-Kollimatoren ausgestattet (19) und andererseits hochauflösende Kleinfeldkameras entwickelt (26), die heute schon eine Auflösung von 1-3 mm erzielen.

Erst im Jahre 1975 fand die Methode des PET Einzug in die nuklearmedizinische Diagnostik.

Neue radiologische Verfahren etablierten sich mit den Entwicklungen des MRT („Magnetresonanztomographie“) 1975 (11) und des CT („Computertomographie“) durch *Hounsfield im Jahre 1971* (16).

Ein relativ neues Feld begründete sich durch die optischen Verfahren Biolumineszenz und Fluoreszenz, wobei die ersten Fluoreszenzchemikalien ihre Anwendung erst 1980 fanden (11).

Mit der Einführung des Ultraschalls auf diesem Gebiet fand ein kostengünstiges Verfahren seinen Weg in die Molekulare Bildgebung.

Die mit Hilfe dieser Verfahren mögliche Molekulare Bildgebung erlaubt heute mehr als nur eine Darstellung anatomischer Strukturen. Bis zum jetzigen Zeitpunkt existieren noch zahlreiche Definitionen bzw. Definitionsversuche zu diesem Thema. Einer dieser Ansätze definiert Molekulare Bildgebung als *visuelle Repräsentation und Charakterisierung von biologischen Prozessen auf zellulärer und subzellulärer Ebene innerhalb eines lebenden Organismus. Es ist ein multidisziplinäres Feld, bei dem die erzeugten Bilder zelluläre und molekulare Reaktionswege aufzeigen und in-vivo-Mechanismen von Krankheiten im Kontext eines physiologisch intakten Umfeldes visualisieren.* (24, 10, 15).

Besonderes Augenmerk soll auf die Möglichkeit der in-vivo-Bildgebung gelegt werden. Eine Quantifizierung der Bioverteilung unterschiedlicher Tracer zum Zwecke nuklearmedizinischer Forschung, sowie in der klinischen Diagnostik, Verlaufskontrolle oder Therapie nichtsubkutaner Tumoren, Entzündungen, kardiologischer oder neurologischer Erkrankungen war bisher nur durch Opferung der Versuchstiere möglich. Durch Messung der Organe im Gammacounter oder durch das Verfahren der Autoradiographie konnten durch Ermittlung der Biodistribution Rückschlüsse auf die Funktion und Stoffwechselaktivität derjenigen Organe gezogen werden, welche eine Anreicherung der radioaktiv markierten Sonden zeigten. Ein zeitlicher Verlauf konnte deshalb nur an unterschiedlichen Tieren dargestellt werden, wohingegen die nichtinvasive Molekulare Bildgebung eine Verlaufsbeurteilung an nur einem Versuchstier ermöglicht.

1.1.1. Allgemeine Zielsetzungen der Molekularen Bildgebung

Durch die Entwicklung der nichtinvasiven Molekularen Bildgebung gelang es in den letzten Jahren, differenzierte zelluläre und molekulare Prozesse des lebenden Organismus, wie z.B. Genexpression oder Protein-Protein-Interaktion durch bildgebende Darstellung zu reflektieren (24). Da diese Prozesse durch physiologische oder auch pathologische Vorgänge ausgelöst werden, kann somit ein besseres biologisches und medizinisches Verständnis des Organismus erhofft werden (33). Eine organgerichtete Funktionsdiagnostik wird ebenfalls ermöglicht. Vor allem die Investigation pathologischer Prozesse steht hierbei im Vordergrund. Die medizinische Diagnostik erfährt durch die verschiedenen Verfahren der Molekularen Bildgebung entscheidende Fortschritte, da die molekularen Mechanismen, die zum Ausbruch einer Krankheit führen, schon vor dem phänotypischen Auftreten in Erfahrung gebracht werden können (39). Dazu gehört z.B. die Darstellung der regionalen Perfusionsrate, der Stoffwechselaktivität in Organen oder der Rezeptorbindungsbilanzen vor allem im Gehirn, welche durch pathologische Prozesse (z.B. Atherosklerose oder immunologische Krankheiten) verändert werden. Auch die Suche nach malignen Tumoren und die weitere Diagnostik onkologischer Fragestellungen erfährt entscheidende Verbesserungen. Im Einzelnen soll auf die genannten Anwendungsbereiche noch in den folgenden Abschnitten eingegangen werden.

Weiterhin bietet die Molekulare Bildgebung eine Informationsgebung unter physiologischen Bedingungen, was der Situation in der klinischen Praxis nahekommt (28) und aus diesem Grund auch zur Kontrolle des Therapieverlaufs eingesetzt werden kann. Eine Verfolgung von gleichzeitig ablaufenden, multiplen molekularen Ereignissen ist durch die Applikation und Bildgebung verschiedener Tracer ebenfalls möglich (24).

Durch die Kombination zweier Einzelmethoden dieses multidisziplinären Feldes, wie z.B. SPECT/MRT oder PET/CT, gelingt es heute sogar biologische und anatomische Information in einem Bild zu vereinen (24), wodurch die Quantifizierbarkeit der Biodistribution verschiedener Radiotracer in Zukunft eine entscheidende Verbesserung der klinischen Forschung mit sich bringen soll.

Auch in der Pharmakologie findet die Molekulare Bildgebung einen breiten Anwendungsbereich, da in präklinischen Studien zahlreiche Versuche an Labortieren durchgeführt werden, um Bioverteilung, Absorption, Metabolismus oder auch Medikamenteninteraktionen und Toxizität des neuen Pharmakons zu überprüfen. Zur Bestimmung der Biodistribution bediente man sich in der Vergangenheit vor allem zweier Methoden. Zum ersten die Bestimmung mit Hilfe des Gammacounters, wobei nach Applikation des Nuklids das Versuchstier getötet wird und daraufhin die verschiedenen Organe entnommen werden. Nach Auswiegen wird deren Aktivität dann im Gammacounter ermittelt. Zweitens die Methode der Autoradiographie. Hierbei erfolgt die Applikation der zu untersuchenden Substanz in das Versuchstier, welches ebenfalls nach einer spezifischen Anreicherungszeit getötet wird, um dünne Schichten der entnommenen Organe auf einen gammaempfindlichen Film zu legen. Die Schwärzung des Films ermöglicht eine quantitative Aussage über die Bioverteilung des Pharmakons zu einem bestimmten Zeitpunkt. Der entscheidende Vorteil der Molekularen Bildgebung besteht in der Möglichkeit, die Verteilung des Tracers in-vivo zu verfolgen. Durch diese Methode gelingt es Arzneimittelleffekte (24) oder die Krankheitsprogression (24) im Versuchstier fortlaufend darzustellen. Die Medikamentenentwicklung lässt sich auf den Stufen der präklinischen Phase und der Optimierung von Medikamentenvorstufen beschleunigen (28).

1.1.2. Vorteile und Nachteile gegenüber bisher gebräuchlichen in-vitro-Methoden

Bedeutende Vorteile ergeben sich aus den schon erwähnten Zielsetzungen der Molekularen Bildgebung. Hervorzuheben ist hier nochmals die Bedeutung der Untersuchung am lebenden Objekt. Folglich bestehen erhebliche ethische Vorteile (24), da die Opferung der Tiere entfällt (22). Des Weiteren ist es nun möglich, zeitliche Abläufe einer Krankheit oder Therapiemassnahmen in einem einzelnen untersuchten Organismus darzustellen. Bisher war dies nur durch Untersuchung von Tierkollektiven möglich. Ein dynamisches Bild von Veränderungen biologischer Parameter ließ sich nur in verschiedenen Tieren darstellen (24). Durch die Methoden der Molekularen Bildgebung gewinnt nun eine zeitliche Verfolgung von Stoffwechselvorgängen in nur einem Versuchstier an Bedeutung.

Wie schon beschrieben, besteht ein weiterer Anwendungsbereich in der pharmakologischen Arzneimittelherstellung, wobei sich auch hier einige entscheidende Vorteile hervorheben lassen. Eine Ermittlung des Arzneimittelpotentials kann schon vor der phänotypischen Veränderung des Organismus erfolgen, die erst im weiteren Verlauf der Beobachtung sichtbar wird (24). Folglich wird die Entwicklung eines Pharmakons in den präklinischen Phasen der Arzneimitteltestung beschleunigt.

Auch gegenüber zellkulturellen Methoden ergeben sich Vorteile im Hinblick auf den zeitlichen Aufwand, der bei diesem Verfahren erheblich ist. Die Darstellung zellulärer Vorgänge durch Molekulare Bildgebung erzielt im Vergleich schnellere Ergebnisse mit weit weniger Arbeitsaufwand (24).

Im Tiermodell ist eine analytische Phänotypisierung möglich, die in direkten Vergleich zu der visuellen Veränderung des Organismus gesetzt werden kann (24). Ein Phänotypenscreening ist durch die Entwicklung transgenetischer Tiermodelle möglich (24). Diese transgenetischen Tiermodelle bieten durch die Validierung ihrer Zielproteine eine schnelle und detaillierte Auffindung verschiedener Moleküle wie z.B. Arzneimittel (24).

Eine Extraktion von dreidimensionalen Informationen ist durch die diversen Techniken der Molekularen Bildgebung schon Standard in der klinischen Bildgebung. Eine Weiterentwicklung zum vierdimensionalen Imaging durch zeitliche Abfolgen wird ebenfalls in naher Zukunft Einzug in den diagnostischen Alltag finden (24). Eine weitere Innovation wird das Design neuer Biomoleküle sein. Hierbei spielen das so genannte „DNA-Shuffling“ und die Anlage von „Phagen-Display-Bibliotheken“ eine Rolle (12). Das erste Verfahren imitiert das Phänomen der Rekombination, während bei letzterem die gewünschten Zielproteine auf der Phagenoberfläche verankert werden, um diese Phagen wiederum in ein E.-coli-Bakterium zu infizieren. Durch die Verfolgung dieser neu erstellten Moleküle bis zu ihren Zielzellen bieten sich die Möglichkeiten zur Identifizierung ihrer Funktion und einer eventuellen Intervention.

Neben diesen Vorteilen, die vor allem die Forschungsebene der Medizin betreffen, erfährt auch der klinische Alltag die Möglichkeit zur qualitativ besseren und schnelleren Diagnosefindung. Die Spezifität der einzelnen Methoden wird vor allem durch deren Kombinationen erheblich gesteigert und bietet somit eine präzisere diagnostische Beurteilung der entstehenden Bilder (38).

Allerdings sollen auch die Nachteile gegenüber den herkömmlichen Techniken erwähnt werden, wobei hier an erster Stelle die Intervention der Anästhetika auf den tierischen Organismus zu nennen ist (1). Die resultierende Down-Regulation der biologischen Prozesse des gesamten beobachteten Organismus endet somit in einer möglicherweise fehlerhaften Auswertung und Analyse der zellulären Funktionen.

Ein weiteres Problem besteht in der spezifischen Methode des „DNA-Imaging“, welches später noch detaillierter erläutert werden soll. Im Vordergrund steht hierbei die begrenzte Anzahl an Targets pro Zelle, was eine Verringerung der „*signal to noise ratio*“ im „direct imaging“ zur Folge hat (33). Auch dies wird im späteren Verlauf dieser Arbeit nochmals aufgegriffen.

Hohe Kosten der bildgebenden Verfahren erfahren eine Relativierung durch die entfallenden Kosten an Labormäusen (24).

1.1.3. Techniken der Molekularen Bildgebung

Im Hinblick auf die Methodik der Molekularen Bildgebung lassen sich im Wesentlichen zwei Arten der Bildgebung differenzieren:

- Das „direct imaging“ beruht auf dem Prinzip des Rezeptor-Ligand-Bindungsmodells, wobei der Rezeptor als direktes Zielmolekül fungiert. Als Sonden dienen heute vor allem Peptide, monoklonale Antikörper oder auch endogene Neurotransmitter (z.B. Dopamin), die ihre Anwendung in unterschiedlichen Gebieten der Molekularen Bildgebung finden. Es sind dies die nuklearmedizinischen Methoden, die Fluoreszenz und auch die paramagnetische Magnetresonanztomographie (24, 4).
- Demgegenüber steht das „indirect imaging“, welches sich auf das Prinzip des Reportergen-Imaging stützt. Hierbei wird eine bestimmte Gensequenz als Reportergen via Transfektion über Plasmid-DNA oder Transduktion mit Hilfe viraler Vektoren in die gewünschte Zielzelle eingeschleust. Es erfolgt daraufhin die Expression der Reportergenprodukte. Das Reportergen kann durch Aktivierung eines Promotors weiterhin zur Induktion von endogenen Zielgenen führen, die unter der Kontrolle desselben Promotors stehen (33).

Als exprimierte Reportergenprodukte sind zwei Proteinarten besonders hervorzuheben. Das Produkt ist im ersten Fall ein Enzym, welches die Reportersonde metabolisiert und der entstehende Metabolit nachfolgend in der Zelle akkumuliert. Im zweiten Fall ist das erzielte Reportergenprodukt ein Rezeptor oder Transporter, der die Sonde selektiv in der Zelle blockiert (4).

Durch die beschriebene Akkumulation der Sonden sind Rückschlüsse auf die Genexpression der Zielzelle möglich (1). Anwendungsbereiche sind hier wiederum nuklearmedizinische Methoden, optische Methoden, ebenso wie das MRT, wobei die spezifischen Anwendungsgebiete bei der Darstellung der einzelnen Verfahren genauer betrachtet werden sollen (4).

Universelle Unterschiede existieren auch in der Anwendung der Imagingsonden. Spezifische Sonden existieren zur Anwendung für das „direct imaging“. Für diese Sonden existieren definierte Zielrezeptoren. Eine Signalgebung basiert demnach auf komplexen chemischen Ereignissen zwischen Ligand und Rezeptor.

Im Gegensatz dazu ist bei dem Imaging mit unspezifischen Sonden keine spezifische Zielzelle definiert. Die Sonde zirkuliert hier während der Bildgebung frei im Gefäßsystem, welches somit zur Darstellung kommt (24).

Eine andere Art der Klassifizierung von Imagingsonden unterscheidet nach der Molekülgröße. Als kleine Moleküle kommen die schon erwähnten Rezeptorliganden und Enzymsubstrate zur Anwendung. Höher molekulargewichtige Sonden sind z.B. rekombinante Proteine oder monoklonale Antikörper (24).

1.2. Einführung in die bisher gebräuchlichen Methoden der Molekularen Bildgebung

1.2.1. SPECT

1.2.1.1. Definition und allgemeine Grundsätze

Die *Single-Photon-Emission-Tomography* bedient sich des Einsatzes diverser Radionuklide, die direkt einen oder mehrere Gammaquanten aussenden, welche ihrerseits von einem oder mehreren rotierenden Detektorköpfen registriert werden. Das Ergebnis einer SPECT-Untersuchung ist ein Satz von überlagerungsfreien Schnittbildern (32). Als wichtige Tracer dienen ^{99m}Tc , ^{123}I , ^{131}I , ^{111}In oder ^{201}Tl , die sich alle durch ihre gute Verfügbarkeit auszeichnen (24, 10). Einige weitere wichtige Eigenschaften dieser Nuklide sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefasst:

Tab.1 SPECT-Nuklide und deren Eigenschaften (32)

	^{99m}Tc	^{123}I	^{131}I	^{201}Tl	^{111}In
Halbwertszeit	6.01h	13.2h	8.04d	3.05d	2.8d
Haupt-Gammalinie	140.5keV	159.0keV	364.5keV	70.8keV	171.3keV und 253keV
Tochter-Nuklid	^{99m}Tc	^{123}Te	^{131}Xe	^{201}Hg	^{111}Cd
Produktion	Generator	Zyklotron	Reaktor	Zyklotron	Zyklotron

Das zum heutigen Zeitpunkt am häufigsten eingesetzte Nuklid in klinischer Anwendung ist das ^{99m}Tc . Dieses erweist sich durch seine günstige HWZ, Gammaenergie und auch die einfach durchzuführende Elution aus dem $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ -Generator als besonders geeignet. In dieser Studie soll deshalb die Betonung auf dieses Nuklid gelegt werden.

Dem Szintillationsdetektor (Gammakamera) ist der Kollimator vorgeschaltet. Seine Aufgabe ist es, die einfallenden Strahlen zu filtern und zu bündeln. Anwendung finden heute der bekannte Parallellochkollimator und seit einiger Zeit wieder der so genannte Pinhole-Kollimator aus den Anfangstagen der Gammakamera (24). Sowohl die Sensitivität als auch die Auflösung sind von deren Einrichtung abhängig. Eine geringere Lochgröße sowie längere Septen des Kollimators resultieren in höherer Auflösung, aber auch in geringerer Sensitivität (24). Durch den Einsatz des Multipinhole-Kollimators konnte eine entscheidende Verbesserung der Sensitivität, wie auch der Auflösung erzielt werden (24, 37).

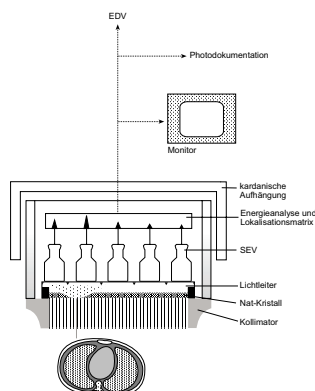


Abb.1 Schematischer Aufbau einer Gammakamera (20)

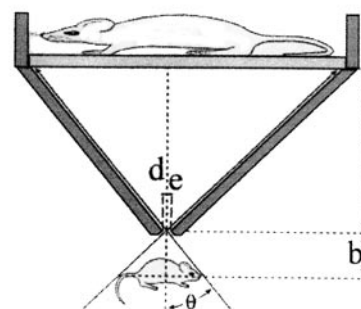


Abb.2 Illustration einer Pinhole-SPECT Aufnahme (20)

In den meisten Gammakameras, so auch den modernen rotierenden Gammakameras, befindet sich thalliumdotiertes Natriumiodid als Szintillator, welcher über einen Lichtleiter mit den Photomultipliern in Verbindung steht. Die Photonen setzen dort durch einen photoelektrischen Effekt Elektronen frei, welche den Sekundärelektronen-Vervielfacher erreichen. An diesem Ort geschieht eine Verstärkung und nachfolgende Umwandlung der Elektronen in einen elektrischen Spannungsimpuls.

Die wesentliche Voraussetzung zur Erstellung dreidimensionaler Bilder ist die Rotation des Detektors um das zu untersuchende Objekt in mehreren Winkelschritten. Dieser Mechanismus birgt eine spezielle Problematik. Durch das Gewicht des dem Detektor vorgeschalteten Kollimators, der in konstantem Radius um das Versuchstier rotieren muss, resultiert aus geringsten Rotationsinstabilitäten ein abweichendes Rotationszentrum mit folgender Artefaktentstehung (13).

Ein Vorteil der SPECT-Untersuchung gegenüber der PET besteht in der Möglichkeit zur gleichzeitigen Detektion unterschiedlicher Radionuklide (Doppelisotopenstudien), da wie schon vorgestellt, multiple Isotope mit unterschiedlichen Gammaenergien zur Verfügung stehen (24).

Durch die Verwendung moderner Pinhole-Kollimatoren ist heute das Erreichen einer Auflösung von 1,7 mm (37) oder sogar bis zu 1 mm (24) möglich, was als Mikro-SPECT bezeichnet wird. Die zeitliche Auflösung bewegt sich im relativ ungünstigen Rahmen von Minuten (24, 15).

Die räumliche und zeitliche Auflösung kann durch den Einsatz eines Multipinhole-Kollimators eine Verbesserung erfahren. Die Sensitivität der Methode ist in einem Bereich von 10^{-10} bis 10^{-11} mol/l anzusiedeln, welche allerdings durch längere Aquisitionszeiten oder der Verwendung eines Multipinhole-Kollimators gesteigert werden kann (5, 24).

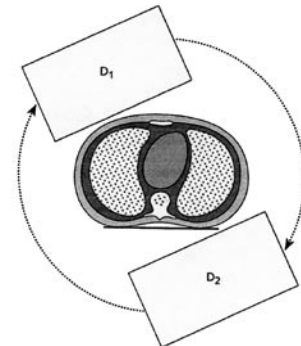


Abb. 3 Schematische Darstellung einer SPECT-Kamera mit Detektoren (20)

1.2.1.2. Nuklide und deren spezifische Anwendungsgebiete

1.2.1.2.1. Peptidrezeptor-SPECT

Somatostatin

Das Imaging der fünf verschiedenen Somatostatinrezeptoren (SSTR) spielt eine bedeutende Rolle in der Tumordiagnostik, da diese auf diversen Tumoren exprimiert werden, wobei Somatostatin durch Angiogenesehemmung dabei als Inhibitor des Tumorstwachstums fungiert. Im Speziellen wird der SSTR-2 auf einer variablen Vielzahl menschlicher Tumore exprimiert, während SSTR-1 und SSTR-4 nur auf Prostatakarzinomen nachgewiesen werden konnten.

Die Anwendung von $^{111}\text{D-Phe-DTPA-Octreotid}$ (Octreoscan) konnte zur Darstellung vor allem des SSTR-2 auf Tumorgewebe wie Mammakarzinomen, Lymphomen oder neuroendokrinen Tumoren genutzt werden (2). Hervorzuheben unter diesen neuroendokrinen Tumoren sind vor allem die Karzinoide (3). Der Octreoscan beherrscht bis zum heutigen Zeitpunkt weitgehend die klinische Anwendung. Der klinisch bedeutsame Nutzen besteht einerseits in der Primärdiagnostik dieser Tumore, aber auch in der Suche nach deren Filiae. Des Weiteren kann mit Somatostatinanaloga auch die Darstellung pathologischer lymphatischer Prozesse, sowie granulomatöser Krankheiten oder der Graves-Krankheit (M. Basedow) gelingen.

Weitere im klinischen Gebrauch stehende Somatostatinanaloga sind $^{99\text{m}}\text{Tc-Depreotid}$ (Neotect) (37) oder $^{99\text{m}}\text{Tc-P829}$ (9,10). Mit Letzterem gelang die Darstellung nichtkleinzelliger Bronchialkarzinomzelllinien durch das Imaging der exprimierten SSTR-2 (12).

Gastrin

Ein weiteres im klinischen Gebrauch stehendes Peptid ist das Gastrin. Die Bindung des Gastrins erfolgt an so genannte Cholezystokinin-B/Gastrin-Rezeptoren, welche in hohem Maße (über 90%) auf medullären Schilddrüsenkarzinomen vorgefunden werden können. Aber auch eine Reihe anderer maligner Tumore, wie das kleinzellige Bronchialkarzinom, ovarielle Stromatumoren oder Astrozytome zeigen einen hohen Prozentsatz dieses Rezeptortyps. Folglich werden zum heutigen Zeitpunkt eine Reihe von CCK/Gastrin-verwandten Peptiden zur Detektion dieser Malignome eingesetzt. Die Gemeinsamkeit dieser Peptide besteht in einer C-terminalen Tetrapeptidsequenz bestehend aus Trp-Met-Asp-Phe-NH₂, welche die Bindung an den CCK-Rezeptor bewirkt. Neuere Studien zeigen eine weitere Verbreitung der Rezeptoren als bisher bekannt, wie z.B. auf kolorektalen-, oder pankreatischen Tumoren (3).

1.2.1.2.2. *Imaging des Dopamintransporters und des D₂-Dopaminrezeptors*

Als sensibles „Instrument“ in der Diagnostik des Morbus Parkinson hat sich das Imaging des präsynaptischen Dopamintransporters erwiesen. Zur Verfügung stehen hier vor allem 123-I-FP-CIT DatScan® (oder 123-I-CIT). Das Ergebnis der SPECT Untersuchung zeigt eine deutliche Down-Regulation des Dopamintransporters. Diese verminderte Anreicherung konnte in der Zwischenzeit nicht nur für den idiopathischen Morbus Parkinson gezeigt werden, sondern ebenso bei den so genannten Parkinson plus-Syndromen (37) oder Multisystematrophien wie z.B. dem Shy-Drager-Syndrom. Im Tierversuch erwies sich eine Hemiparkinsonratte als Beleg für diese Ergebnisse (13). Erstmals gelang mit Hilfe dieser Methode die Differenzierung von essentiellen Tremor und dem Tremor bei Morbus Parkinson.

Weiterhin wurde auch bei Patienten mit depressivem Syndrom oder einer schizophrenen Psychose mit überwiegender Negativsymptomatik eine verminderte Anreicherung des Nuklids in der SPECT-Untersuchung gezeigt (37).

Zur weiteren Differenzierung im Bereich psychiatrischer und neurologischer Erkrankungen erwies sich das Imaging des postsynaptischen D₂-Rezeptors mit Hilfe von 123-I-IBZM oder 123-I-ILIS als wichtiges Hilfsmittel. Durch die spezifische Bindung dieser Nuklide konnte eine pathologische Erhöhung dieses Rezeptors bei Patienten mit Schizophrenie, Manie oder dem hyperkinetischen Syndrom (HKS) gezeigt werden (37). Bei neurodegenerativen Krankheiten hingegen resultierte eine Down-Regulation des D₂-Rezeptors.

1.2.1.2.3. *Benzodiazepinanaloga*

Als wichtigstem inhibitorischen Transmitter des ZNS kommt γ -Aminobuttersäure, ebenso wie dem korrespondierenden γ -Aminobuttersäure-A-Rezeptor, neben den Dopaminrezeptoren eine weitere herausragende Rolle in der Diagnostik neurologischer Krankheiten zu. Durch die hoch affine Bindung des 123-I-Iomazenils an diesen Rezeptor stellte sich eine pathologisch erhöhte Aktivität in C6-Gliomzelllinien sowohl in-vitro als auch in-vivo dar (37). Ebenfalls erhöhte Aktivität fand sich bei Patienten mit der präsenilen Demenz vom Alzheimer-Typ (37).

Eine verminderte Speicherung des Nuklids konnte auch bei variablen psychiatrisch-/neurologischen Krankheiten gefunden werden. Als Beispiele sind hier die Angststörung oder die Temporallappenepilepsie zu nennen, die mit einer verminderten Expression der γ -Aminobuttersäure-A-Rezeptoren einhergingen (37, 23).

1.2.1.2.4. *Imaging apoptotischer Zellen*

Die Darstellung der Apoptose erlangte Bedeutung in der Chemotherapie maligner Tumoren. Es konnte gezeigt werden, dass die Tumorzellen das Ansprechen auf die Therapie mit Apoptoseinduktion beantworteten (37). Das Imaging beruht auf der Darstellung

von Phosphatidylserin und basiert auf der spezifischen Bindung von ^{99m}Tc -Annexin V, einem endogenen Humanprotein, welches schon zu Beginn der Apoptosekaskade durch Inaktivierung einer Translokase (33) an die Zelloberfläche externalisiert wird. Während Phosphatidylserin normalerweise an der Innenseite der Phospholipiddoppelmembran zu finden ist, erscheint es also im Falle der Apoptose auf der Außenseite dieser Membran. Durch spezifische Bindung von ^{99m}Tc -Annexin V an das externalisierte Phosphatidylserin werden die betroffenen Zellen dargestellt. Ein Problem liegt bei dieser Art der Diagnostik in der Spezifität, da nicht nur apoptotische Zellen zur Darstellung kommen, sondern auch die Zerstörung der Zellmembran zu der Möglichkeit einer Bindung von Annexin V an Phosphatidylserin führt (33).

In Zukunft soll das Augenmerk aber nicht mehr nur auf die Kontrolle des Ansprechens auf Chemotherapie gelegt werden. Des Weiteren erscheint Imaging mit Annexin V auch vielversprechend in der bildlichen Darstellung von Entzündungsherden, Autoimmunerkrankheiten, Myokardischämie oder dem Screening instabiler atherosklerotischer Plaques (37).

Ebenfalls von grosser Bedeutung bietet diese Art der Apoptosedarstellung in der nichtinvasiven Detektion einer myokardialen Transplantatabstossung (37, 33).

1.2.1.2.5. mRNA Imaging

Das so genannte „Antisense Imaging“ mit speziell hergestellter und markierter (z.B. ^{111}In -) antisense-RNA ermöglicht die Detektion von messenger-RNA als Transkriptionsprodukt und gilt somit als indirekter Parameter für die vorangegangene Genexpression (10, 15). Voraussetzung für das Imaging spezieller mRNA Sonden ist der unspezifische Transport der Antisense-Oligonukleotide in die Zellen („hybridize phase“) und der nachfolgende Washout aus Nichtzielzellen („washing phase“) (10). Jede Zelle, deren genetischer Code bekannt ist, ist dieser Methode zugänglich. Eine Erkenntnis des mRNA-Imagings scheint, dass jede gesunde oder auch kranke Zelle ein bestimmtes Muster an mRNA-Expression aufweist, welches zur Diagnostik pathologischer Ereignisse im untersuchten Gewebe genutzt werden kann (15).

Eine Weiterentwicklung dieser Methode soll in Zukunft auch den Weg in die Tumorthherapie finden. Analog zur antisense-RNA werden radioaktiv markierte antisense-DNA-Oligonukleotide in die Zelle eingeschleust. Die Bindung an ihre Zielsequenz führt zu einer Akkumulation der Radioaktivität in dem gewünschten Gewebe und somit zu dessen Zerstörung, wobei der klinische Nutzen dieser Therapiemethode bereits demonstriert werden konnte (15).

Spezifische Beispiele des Imaging mit Antisense-Oligonukleotiden sind von diversen Forschungsgruppen schon veröffentlicht:

- Akkumulation von ^{111}In -c-myc-Antisense-Sonden in Mäusen mit c-myc überexprimierenden Mammatumoren (Dewanjee et al, 1994)
- Tumor-Imaging mit Hilfe eines alpha-antisense-Oligonukleotids für die mRNA des „glial fibrillary acidic protein“ (Urban et al, 1995)

Diverse Probleme dieser Methode stellten sich bereits heraus:

Da nur eine geringe Anzahl von mRNA pro Zelle zur Verfügung steht, resultieren meist auch zu niedrige Countraten, um eine gute Qualität der SPECT-Bilder zu erreichen (15). Das Imaging der mRNA scheint als Indikator für die korrespondierende Proteinmenge ungeeignet. Oftmals wurde nur eine Korrelation von 0,5 oder weniger gefunden, weshalb es zu Missinterpretationen kommen kann (12). Eine Lösung dieses Problems scheint aber schon greifbar, indem man sich auf die Detektion der polysomengebundenen mRNA konzentriert. Da nur diese gebundene mRNA auch wirklich translatiert wird, erscheint durch deren Imaging eine direkte Korrelationsrate zu der tatsächlich neu synthetisierten Proteinmenge (12).

1.2.1.2.6. *Imaging des Natrium-Iodid-Symporters (hNIS)*

Das NIS-Transmembranprotein bewirkt durch sekundär aktiven Kotransport einen Symport von Iodid und Natrium in den Intrazellularraum verschiedener Gewebe. Primär finden sich NIS in der Schilddrüse, der laktierenden Mamma, den Speicheldrüsen oder der Mucosa des Magens. Aufgrund des oben beschriebenen Mechanismus findet in diesen Geweben eine Anreicherung radioaktiver Isotope des Iodids (^{123}I , ^{131}I) oder $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Pertechnetat statt (14)(33).

Anwendung fand das Imaging des Symporters bislang in der Diagnostik von Schilddrüsenmalignomen und deren Metastasen (33). Neue Studien lassen nun noch einen weiteren Anwendungsbereich vermuten, denn im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass auch einige Mammarkarzinome NIS exprimieren und somit auch $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Pertechnetat vermehrt aufnehmen (33).

Neben der Diagnostik maligner Tumore spielt der Symporter auch in der Tumorthherapie eine Rolle. Mit Hilfe eines adenoviralen Vektors wurde das NIS-Gen in Prostatatumorzellen transferiert. Durch die Expression von NIS erfolgte ein vermehrter Uptake von ^{131}I in die Zellen und infolgedessen eine Reduktion des Tumolvolumens um 84% (33). Analog dazu konnte auch in Hepatomzellen eine Erhöhung des ^{131}I -Uptakes um den Faktor 84-235 gezeigt werden (12).

1.2.1.2.7. *Herpes-Virus-1-Thymidinkinase (HSV-1-tk) als in-vivo-Reportergen*

Die Expression der HSV-1-tk führt zur Phosphorylierung spezifischer Substrate und infolgedessen zur Akkumulation der nun negativ geladenen Metaboliten im Intrazellularraum. Sowohl für SPECT als auch für PET konnten Substrate markiert werden, wobei zur Nutzung des SPECT vor allem ^{131}I -FIAU zu nennen ist. Es besteht hierbei eine signifikante Korrelation zwischen der Retention von FIAU pro Gramm Gewebe und der Expression der HSV-1-tk der jeweiligen Zelle (14, 12). Dennoch konnte der optimale Tracer für diese Methode noch nicht gefunden werden, da die bisher gebräuchlichen nur eine relativ niedrige Affinität zum Rezeptor aufweisen.

1.2.1.3. **Neuerungen**

Wie schon erwähnt, wurde der Pinhole- bzw. Multipinhole-Kollimator eingeführt, um eine bessere Sensitivität sowie eine höhere Auflösung der SPECT zu erreichen. Aufgrund des hohen Eigengewichtes besteht die Schwierigkeit einen präzise konstanten Rotationsradius des Kollimators während des gesamten Vorgangs einzuhalten. Schon geringe Abweichungen im Rotationsradius resultieren in Artefakten (13). Um dieses Problem zu lösen wurde die Methode des rotierenden Tieres entwickelt. Der schwere Kollimator bleibt hierbei fixiert und nur das leichte Versuchstier oder Phantom rotiert nach präziser Positionierung in der Mitte des Pinholes.

Studien an Kleintieren ergaben eine hervorragende Bildqualität mit einer Auflösung von ca. 1,1 mm, wohingegen der rotierende konventionelle Vierlochpinhole-Kollimator nur Auflösungen von ca. 1,65 mm erzielte (14). Artefakte durch die Rotation des Tieres konnten - selbst in der Peripherie - nicht festgestellt werden und auch Eigenbewegungen innerer Organe scheinen keinen Einfluss auf die Bildqualität zu haben.

Auch die nun erhältlichen mikro-SPECT-Kameras ermöglichen eine ähnliche Auflösung im Bereich von ca. 1 mm (15).

Eine weitere Neuerung ist die Entwicklung einer Kamera, die sowohl SPECT-, als auch CT-Bilder erzeugt (15). Eine Kombination dieser beiden Verfahren durch Überlagerung beider entstandener Bilder ermöglichte schon seit einiger Zeit eine gute anatomische Orientierung, in Verbindung mit der Darstellung von Vorgängen im Organismus in-vivo. Das derzeit sensitivste System, welches von der Universität Arizona gebaut wurde besteht aus 24 kleinen Gammakameras, die in zwei zirkulären Reihen angeordnet sind.

Bei diesem so genannten FASTSPECT ist jeder Gammakamera jeweils ein 1,0 mm Pinhole-Kollimator vorgeschaltet (22). Ein weiteres System, das U-SPECT, wird derzeit in der Universität Utrecht konstruiert. Dieses zeichnet sich dadurch aus, dass es aus neun Ringen besteht, welche jeweils 20 Pinhole-Kollimatoren beinhalten. Eine Auflösung im Submillimeterbereich soll auf diese Weise ermöglicht werden (22). Beide Systeme zeichnen sich dadurch aus, dass eine Rotation um das gewünschte Objekt, aufgrund der multiplen Pinholes nicht länger nötig ist.

1.2.2 PET

1.2.2.1. Definition und allgemeine Grundsätze

Die Positronenemissionstomographie registriert hoch energetische Gammastrahlung, die aus dem zu untersuchenden Objekt emittiert wird (24). Hierbei werden natürliche biologische Moleküle mit kurzlebigen Positronenstrahlern markiert, welche Emissionsenergien von einigen 100 keV bis zu mehreren MeV besitzen (31). Das durch den β^+ -Zerfall im Kern entstehende Positron annihiliert mit einem nahegelegenen Elektron, und es entstehen zwei 511-keV-Gammaquanten, welche in einem Winkel von 180 Grad auseinanderfliegen (24). Diese beiden Vernichtungsquanten werden von ringförmig um das Objekt angeordneten Detektoren in Koinzidenz registriert.

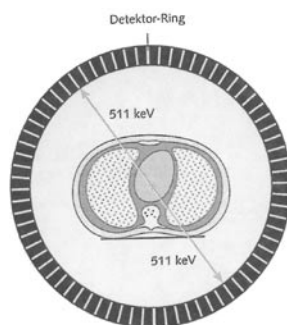


Abb.4 Schematischer Aufbau eines PET-Scanners (20)

Es werden die physiologisch vorkommenden Elemente Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff genutzt, deren Isotope als Positronenemitter vorkommen können. Vorrangig sind dies $^{11}\text{-C}$, $^{13}\text{-N}$, $^{15}\text{-O}$, $^{18}\text{-F}$, $^{64}\text{-Cu}$ (24, 15).

Der Vorteil in der Nutzung dieser physiologischen Elemente besteht darin, dass sich viele stoffwechselrelevante Substanzen durch Austausch eines Isotopes gegen das Radioisotop markieren lassen, wobei sich die Eigenschaften des Moleküls nicht verändern (31). Aufgrund seiner niedrigen Positronenenergie von 635 keV, und somit der geringen Reichweite des Positrons von nur ca. 1,8 mm im Gewebe, ermöglicht das Fluorisotop $^{18}\text{-F}$ die höchste Auflösung (22). Ähnlich verhält es sich mit $^{64}\text{-Cu}$. Die höhere Reichweite der Positronen anderer Nuklide führt zu einer Verminderung des Kontrastes (30). Die Problematik besteht in den relativ kurzen Halbwertszeiten der Isotope (z.B. $^{18}\text{-F}$ mit 108 min, $^{11}\text{-C}$ mit 20 min, $^{15}\text{-O}$ mit 2 min). Aus diesem Grund sollte die Inkorporation des Isotopes relativ schnell erfolgen, was den Transport der Nuklide nahezu unmöglich macht (24). Ein vor Ort vorhandenes Zyklotron ist deshalb beim PET nahezu unabdingbar (15). Die einzigen Ausnahmen bestehen bei der Anwendung des $^{18}\text{-F}$ und des $^{68}\text{-Ga}$, welche auch durch Versand an den Ort der PET-Untersuchung transportiert werden können. $^{68}\text{-Ga}$ ist überdies als Generatorprodukt erhältlich. Schon Nuklidmengen im Nanogrammbereich sind ausreichend, um eine gute Qualität des PET-Scans zu erzielen (24).

Die Korrektur der Schwächung der emittierten Strahlung, die aufgrund von Streuung und Absorption entsteht, ist beim PET verhältnismäßig einfach und auch präzise möglich. Des Weiteren ist durch die Ausstrahlung der beiden Positronen eine präzise Ortsangabe deren Ursprungs möglich. Aus diesen Gründen ist die Quantifizierung des Tracers relativ problemlos durchführbar (24). Die Sensitivität dieses Verfahrens ist mit 10^{-11} - 10^{-12} mol/l ebenfalls vergleichsweise hoch und überdies weitestgehend unabhängig von der Eindringtiefe in das Gewebe (24). Ein weiterer Vorteil der PET ist die Unabhängigkeit des Verfahrens von der Absorption aufgrund der elektronischen Kollimierung. Es lässt sich somit eine gute zeitliche Auflösung von bis zu 10 Sekunden erzielen.

Die räumliche Auflösung, welche vom jeweiligen Radionuklid abhängt, bleibt allerdings nach unten prinzipiell begrenzt und bewegt sich in einem Rahmen von 6-8 mm, bei zerebralen Scans bis zu 3 mm (24). Ausschlaggebend hierfür ist die endliche Reichweite der Positronen im Gewebe, die je nach Art des verwendeten Nuklids bis zu einigen Millimetern beträgt. Aufgrund dieser endlichen Reichweite entspricht die Lokalisation des Positrons auf dem entstehenden Bild nicht der Emissionslokalisation sondern dem Annihilationsort, welcher durch den Weg des Positrons in seiner Distanz vom Ursprungsort differiert (22). Ein weiterer Faktor ist die mögliche Abweichung des 180 Grad Winkels der beiden Positronen. Diese Winkelabweichung wird durch den Restimpuls des Positrons bei der Annihilation bedingt (31).

Weiterhin ist die Detektion von zwei Isotopen bei der PET nicht möglich, da ausschließlich Gammaquanten mit identischem Energieniveau entstehen. Werden zwei Isotope simultan injiziert, kann der Detektor nicht zwischen diesen unterscheiden (24).

Die Markierung von Pharmaka mit radioaktivem Sauerstoff oder Kohlenstoff ist überdies nur mit komplizierter Radiochemie möglich (31).

1.2.2.2. Nuklide und deren spezifische Anwendungsgebiete

1.2.2.2.1. *Fluordesoxyglucose (FDG)*

Mit Hilfe des Glucoseanalogons FDG ist es möglich, die Glucoseutilisation des Gehirns darzustellen (24, 4, 10). Aufgrund der Phosphorylierung durch das Enzym Hexokinase erfolgt eine Anreicherung des radioaktiv markierten FDG-6-Phosphats innerhalb der Zelle, welches aufgrund der enzymatischen Reaktion eine negative Ladung erhalten hat. Im Wesentlichen wird also die Interaktion zwischen Glucoseanalogon und Hexokinasmolekül visualisiert (4, 10), was auf eine erhöhte Glykolyserate hinweist. Außerdem korreliert eine vermehrte intrazelluläre Anreicherung mit einer Überexpression des GLUT-1-Transporters, über welchen FDG in die Zelle aufgenommen wird. Ebenso konnte gezeigt werden, dass auch eine hypoxische Umgebung eine erhöhte Aufnahme in das Zellinnere bewirkt. Da eine Reihe maligner Tumoren eine erhöhte Glykolyserate oder Überexpression des genannten Transportes aufweist, kann die PET in diesem Falle zur Visualisierung dieser Tumoren oder zum Staging einschließlich Metastasensuche und nachfolgender Therapieentscheidung genutzt werden (11).

Eine spezifische Tumordarstellung durch FDG ist allerdings nicht möglich, da auch andere Glucose verwertende Zellen, wie z.B. Makrophagen oder Leukozyten, eine Anreicherung zeigen. Missinterpretationen z.B. durch entzündliche Reaktionen sind auf diese Weise möglich. Auch die Aktivität des ausschlaggebenden Enzyms Hexokinase ist keinesfalls tumorspezifisch (33).

1.2.2.2.2. *Herpes-Virus-1-Thymidinkinase (HSV-1-tk) als in-vivo-Reportergen*

Wie auch schon für die Methode des SPECT beschrieben, bewirkt das Enzym HSV-1-tk die Phosphorylierung einer radioaktiv markierten Reportersonde, welche nachfolgend in der Zelle akkumuliert, da die Zellmembran nun nicht mehr überwunden werden kann. Die Menge der intrazellulär angereicherten Sonde reflektiert also das

Aktivitätslevel der HSV-1-tk-Genexpression (10). Für die PET werden vor allem 18-F-markierte Acycloguanosinderivate, wie z.B. 18-F-Ganciclovir, 18-F-FHBG (4), aber auch 18-F-Thymidin (11) oder 18-F-FIAU eingesetzt (28). Verwendung findet das Verfahren auch in der Darstellung der Modulation der Genexpression unter Chemotherapie. Es konnte gezeigt werden, dass Zellen unter Antifolattherapie eine rapide Steigerung der Dihydrofolatreduktaseaktivität erfahren. Diese erhöhte Genexpression wurde durch die erhöhte Aktivität der Reportersonde 18-F-FIAU nachgewiesen (28).

Auch im Rahmen der Tumorthherapie werden die radioaktiv markierten Reportersonden genutzt, wobei das HSV-1-tk-Gen als Suizidgen via Vektoren in die gewünschte Zielzelle eingebracht wird.

Für eine Mutante dieses Enzyms, HSV-1-sr39tk, scheint eine noch höhere Effektivität im Bezug auf die Phosphorylierung der Reportersonden möglich, weshalb die Sensitivität des Verfahrens noch gesteigert werden konnte (14).

1.2.2.2.3. *Dopamin-D₂-Rezeptor-Imaging*

Ebenso wie für die Bildgebung durch SPECT, existieren auch für die PET-Untersuchung radioaktiv markierte Nuklide, die eine Darstellung des Dopamin-D₂-Rezeptors (D2R) ermöglichen. Am bedeutendsten zum Monitoring des dopaminergen Systems bei unterschiedlichen neurodegenerativen Krankheiten – die schon für SPECT näher erläutert wurden – sind hierbei das 18-F-FESP und das 11-C-Racloprid (5).

Durch die Anwendung des D2R-Gens als Reportergen, welches in bestimmte Zelllinien transferiert wurde, konnte im Tierversuch – im Gegensatz zu D2R-negativen Tumoren – eine deutliche Anreicherung von 18-F-FESP auf Tumoren gezeigt werden, die daraufhin den D2R exprimierten (33, 5). Problematisch bei dieser Darstellung durch den D2R erschien bisher die Konkurrenz endogener Liganden an dem Rezeptor, wodurch eine Verfälschung der Ergebnisse zu erwarten war. Die Lösung dieses Problems erfolgte allerdings schon durch die Herstellung einer D2R Mutante (D2R80A) durch Punktmutation, welche nicht mehr in der Lage ist, eine Modulation des intrazellulären cAMP aufgrund von Dopaminbindung an diesem Rezeptor herbeizuführen. Die Bindung des FESP allerdings bleibt durch die Mutation unbeeinflusst (33, 5).

1.2.2.2.4. *Somatostatinanaloga*

Ein weiteres Analogon zum nuklearmedizinischen SPECT existiert in der Anwendung unterschiedlicher Somatostatinanaloga zum SST-Rezeptor-Imaging. Genutzt werden diese Moleküle zur Darstellung diverser neuroendokriner Tumoren, wie z.B. der Adenohypophyse oder Inselzelltumoren des Pankreas, welche eine Überexpression der SSTR aufweisen (33). Des Weiteren exprimieren aber auch nicht neuroendokrine Tumore wie z.B. Lymphome oder Mammakarzinome vermehrt Somatostatinrezeptoren, wodurch die Möglichkeit besteht, diese ebenfalls bildlich darzustellen (33). Hervorzuheben unter den Somatostatinanaloga ist das Octreotid, welches mit diversen PET-Nukliden, wie 64-Cu, 68-Ga oder 18-F markiert werden kann. Charakteristische Vorteile sind die Stabilität unter physiologischen Bedingungen des Organismus in-vivo und die effiziente renale Clearance.

Eine neuere Entwicklung ist die Bildgebung von Meningeomen mit Hilfe von 68-Ga-DOTA-Tyr3-Octreotid.

Eine chemische Weiterentwicklung des Octreotids ist auch das meist mit 64-Cu markierte TETA-Octreotid, welches sich durch eine besonders hohe Affinität zu SSTR und eine ebenfalls sehr effiziente renale Elimination auszeichnet (33).

1.2.2.2.5. *Thymidinanaloga*

Da durch FDG-PET keine spezifische Darstellung von Tumorzellen gelingt, wurde nach einer Methode gesucht, die eine direkte Darstellung maligner Tumoren ermöglicht. Auf der Basis der Bildgebung erhöhter Zellproliferation als Charakteristikum von Tumorzellen gelingt mit Hilfe von Nukleosidanaloga eine präzise Darstellung der Tumorzellproliferation (33). Besonders Erfolg versprechend für diese Methode sind die Thymidinanaloga FLT und FMAU, welche mit 18-F markiert werden. Da diese schnell in neu synthetisierte DNA eingebaut werden, ist es folglich leicht möglich, deren Proliferationsrate zu verfolgen. Der Transport in die Zelle erfolgt über Transporter der Nukleosidfamilie, woran sich eine Phosphorylierung durch die endogene Thymidinkinase anschließt. Daraufhin erfolgt eine Anreicherung der Moleküle im Intrazellularraum (33).

1.2.2.2.6. *Cholinanaloga*

Ein weiterer viel versprechender Ansatz in der Tumorzell-darstellung ist der Weg über radioaktiv markiertes Cholin bzw. Cholinanaloga, wie 11-C-Cholin, 18-F-Fluorethylcholin oder 18-F-Fluormethylcholin. Die Grundlage besteht darin, dass in Tumorgewebe signifikant erhöhte Mengen von Phosphorylcholin nachgewiesen werden konnten. Im Gegensatz hierzu findet sich in normalem Gewebe ein nichtdetektierbarer Spiegel. Über einen aktiven Transportmechanismus wird Cholin in die Zelle aufgenommen. Es folgt eine Reaktion mit der Cholin-kinase, deren Produkt das Phosphorylcholin ist, welches sich im intrazellulären Phospholipidpool anreichert.

Auf diese Weise ist es bisher gelungen eine Reihe von Tumoren mit Hilfe von Cholinanaloga darzustellen, wie z.B. Karzinome der Lunge, des Gehirns, des Dickdarmes oder der Blase (33, 23). Neue Studien allerdings legen primären Fokus auf die molekulare Bildgebung von Prostatakarzinomen und deren Metastasen. Besonders geeignet hierfür ist die Nutzung von Fluorethylcholin, das schnell in der Blase akkumuliert. Im Vergleich zu FDG-PET konnte ein signifikanter Vorteil zur Detektion des metastasierten Prostatakarzinoms gezeigt werden (33).

1.2.2.3. **Neuerungen**

Die Nutzung des neuen Szintillators Lutetiumorthosilikat (LSO) vereint diverse Vorteile der bisher gebräuchlichen Szintillatoren Bismuthgermanat oder NaI. LSO produziert nach Absorption eine annähernd identische Lichtmenge eines Photons wie NaI und besitzt eine ähnlich optimale Abbremsgeschwindigkeit wie Bismuthgermanat. Ein Vorteil gegenüber beiden bisher gebräuchlichen Szintillatoren besteht in der schnelleren Emission des LSO. Die Registrierung von akzidentiellen Koinzidenzen durch zeitnahe Registrierung kann somit reduziert werden (22). Diese Kristalle bieten demnach die besten Charakteristiken für eine effiziente Detektion der Positronannihilation in einem Einringkamerasystem (30).

Das mikroPET-System der Firma *Concorde Microsystems* besteht aus vier Ringen mit 24 Detektoren. Jeder dieser Detektoren wiederum besteht aus 8 x 8 Reihen von LSO-Kristallen. Die messbare Auflösung beträgt bei diesem System ca. 2,5 mm (30). Das Problem der geringeren Auflösung beim Kleintier-Imaging konnte mit diesem System gelöst werden.

1.2.3. **Biolumineszenz**

1.2.3.1. **Definition und allgemeine Grundsätze**

Zu den optischen Verfahren der molekularen Bildgebung zählt das Biolumineszenz-Imaging (BLI). Das Prinzip bedient sich der Nutzung von Photoproteinen wie Lucifer-

sen als Reportergene. Luciferasen sind eine Enzymgruppe, die durch ATP- und O₂-abhängige Oxidation von Luciferin zur Lichtemission fähig sind (33, 6). Nachdem also bestimmte Zellen mit dem Gen für Luciferase transformiert wurden, lumineszieren diese sobald sie mit Luciferin versorgt werden. Das für die Reaktion nötige ATP und auch der Sauerstoff werden aus endogenen Pools zur Verfügung gestellt. Vergleichbar sind diese Zellen nun mit endogenen Glühbirnen, die Photonen emittieren (6). Eine externe Exzitation ist bei diesem Verfahren, im Gegensatz zur Fluoreszenz, nicht von Nöten (24). Am häufigsten genutzt wird das schon erwähnte Enzym Luciferase des nordamerikanischen Glühwürmchens *Photinus pyralis*, welches durch die Oxidation zur Emission von grünem Licht führt (6). Bei der Anwendung der Luciferase besteht keine Einschränkung der Bildgebung des ZNS, da die Bluthirnschranke durch diese Substanz ungehindert passiert wird (6). Seltener in Gebrauch ist die so genannte Renilla-Luciferase, welche Coelenterazin als Substrat benötigt und den Vorteil bietet, dass bei diesem Enzym keine Abhängigkeit von ATP besteht (24). Voraussetzung für die Anwendung der Biolumineszenz ist die Tatsache, dass Gewebe von Säugetieren relativ opak ist und somit eine Transmission von Licht im sichtbaren Bereich und auch im Infrarotbereich, größer als 600 nm (also in einem relativ breiten Spektrum), transzellulär zulässt. Es ist aber somit auch verständlich, dass die Qualität des Verfahrens von der Transmissionsmöglichkeit der emittierten Photonen durch umliegendes Gewebe abhängig ist. Das emittierte Licht dieser internen biologischen Quellen wird durch sensitive Low-Light-Imaging-Systeme basierend auf der Grundlage von „charge-coupled-Kameras“ (CCD) extern detektiert (23). Da der Input für die Luciferasereaktion ein chemisches Substrat ist, welches kein eigenes Lichtsignal produziert, und es somit erst durch das Vorhandensein dieses Enzyms zur Lichtemission kommt, existiert bei dieser Art und Weise der molekularen Bildgebung kein Hintergrundsignal. Dadurch lässt sich erklären, dass mit dem BLI eine extrem hohe Sensitivität von 10⁻¹⁵ bis 10⁻¹⁷ mol/l erzielt werden kann. Im Vergleich zum PET weist es eine bis um den Faktor 1000 höhere Sensitivität beim Reporter-Gen-Imaging in Muskelzellen auf. Für die Bildgebung der Leber lässt sich noch eine 10fach erhöhte Sensitivität nachweisen (23). Schon geringste Signale von wenigen hundert oberflächlich gelegenen Zellen sind somit detektierbar. Ein weiterer Vorteil des BLI besteht in der Möglichkeit zur Detektion mehrerer Versuchstiere gleichzeitig, was aufgrund der Konfiguration der CCD-Detektoren gelingt (23). Durch die Anwendung unterschiedlicher Sonden ist, aufgrund ihrer andersartigen spektralen Charakteristika, sogar eine Mehrkanalbildgebung möglich (24). Ebenfalls von Vorteil sind die extrem kurzen Aquisitionszeiten von ca. 10-60 Sekunden und die relativ einfache Handhabung (24). Eine simultane Messung von bis zu sechs anästhesierten Versuchstieren ist ebenfalls möglich und führt wiederum zu Zeit-, und Kostenreduktion. Des Weiteren stellen die optischen Verfahren eine relativ kostengünstige Alternative im Vergleich zu den nuklearmedizinischen Verfahren dar, um eine Reporter-Gen-Bildgebung zu erzielen (24). Ein entscheidender Nachteil der Biolumineszenz besteht in der relativ schlechten räumlichen Auflösung dieses Verfahrens, welche überdies starke Abhängigkeit von der Gewebstiefe der untersuchten Zellen aufweist. In einer Tiefe von 3-5 mm besteht eine räumliche Auflösung von 4-5 mm (24). Erklärbar ist dies durch die schon erwähnte Abhängigkeit des BLI von den umliegenden Geweben, welche eine gute Lichttransmission zulassen müssen. Im Gegensatz zu Haut und Muskeln, welche die höchsten Transmissionsraten aufweisen, kommt es in stark vaskularisierten Organen wie Leber oder Milz zu einer starken Absorption des Lichtes durch Oxyhämoglobin und Desoxyhämoglobin. Schon im Allgemeinen wird allerdings eine Abnahme des Lichtsignals um den Faktor 10 für jeden Zentimeter Eindringtiefe in das Gewebe angegeben. Die Effizienz der Biolumineszenz wird demnach nur bei Zellen als ausreichend angesehen, die eine Tiefe von 1-2 cm nicht überschreiten (24). Die klinische Anwendbarkeit ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht gegeben, da die Überführung des Luciferasegens (als Reportergen) in die gewünschte Zelle in jedem Fall von Nöten ist, um eine Lichtemission zu erzeugen (6). Im in-vivo-Tiermodell allerdings bietet das Verfahren heute eine gute Alternative zu den nuklearmedizinischen Methoden des Reporter-Gen-

Imaging. Weiterhin bieten die heute gebräuchlichen CCD-Kameras noch keine Möglichkeit zur dreidimensionalen Darstellung. Zusätzlich zu dem Informationsverlust, der durch die Eindringtiefe entsteht, kommt es also zu einem weiteren Leck an Information durch die ausschließlich planare Darstellbarkeit (24). Die Möglichkeit zur quantitativen Auswertung besteht beim Verfahren des BLI nicht (24).

1.2.3.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Luciferase als Reporterger

1.2.3.2.1. Tumorzell-Imaging

Durch die Herstellung von luciferaseexprimierenden 9L-Gliomzellen erfolgt eine Lichtemission dieser Tumorzellen im Gehirn von Ratten. Durch diese Studie konnten das Wachstum sowie das Ansprechen der Tumorzellen auf Chemotherapie mit BCNU detailliert verfolgt werden. Die Möglichkeit der Verfolgung temporärer Veränderungen in Tumoren sowie die tumorspezifische Reaktion auf Chemotherapeutika ermöglicht heute eine bessere Evaluation experimenteller Therapieansätze (7). Den Vergleich mit der Methode des MRI konnte das BLI in diesem Modell als gleichwertig bestehen.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit fand das BLI in einer Studie zum Nachweis von Knochenmarksmetastasen im Mausmodell, welche zuvor auf PCR, Radiographie oder histologischen Analysen beruhte. Ein entscheidender Vorteil der Biolumineszenz bei dieser Studie besteht in der temporären Verfolgung der Vorgänge im Organismus in diesem in-vivo-Modell. Mit Hilfe dieser Methode gelang es mikrometastatische Läsionen des Knochenmarks eines Mammakarzinoms darzustellen, welche durch die Radiographie in diesem Stadium noch nicht detektierbar waren. Schon ein Volumen der Filiae von $0,5 \text{ mm}^3$, korrespondierend zu ca. 2×10^4 Zellen war in dieser Studie darstellbar. Aufgrund der Stabilität der in die Zellen integrierten Reportergene war eine Langzeitevaluation der Ergebnisse möglich. Studien metastatischer Erkrankungen werden durch das BLI aufgrund der extrem frühen Detektierbarkeit und der Möglichkeit zur Verfolgung der Krankheitsentwicklung einen entscheidenden Fortschritt erfahren. Ebenso kann die Entwicklung effektiver Ansätze zur Detektion einer kleinsten Anzahl von Tumorzellen im menschlichen Organismus vorangetrieben werden (7, 23). Auch kann auf diese Weise eine bessere Übersicht über die anatomische Verteilung und zeitliche Ausbreitung metastatischer Läsionen im Organismus erhalten werden (23).

Ein weiteres Modell befasste sich mit der in-vivo-Bildgebung von humanen zervikalen Karzinomzelllinien (HeLa) mit Hilfe einer modifizierten Luciferase und einer hoch sensitiven CCD-Kamera. Mit dem Enzym transfizierte Zellen konnten schon in einer Konzentration von 10^3 Zellen intraperitoneal oder 10^4 Zellen in subkutaner Lokalisation nachgewiesen werden. Auch hier war ein Monitoring der Entwicklung dieser Tumoren über einen längeren Zeitraum hinweg möglich (6).

1.2.3.2.2. Molekulare Bildgebung von Immunzellen

Zur Darstellung von Kollagen-II-Arthritis in Mäusen mit Hilfe des Imagings spezifischer T-Zellen konnte die Biolumineszenz ebenfalls effektiv genutzt werden. In diesem Fall gelang es, Kollagen-II-spezifische T-Zellen mit einem Retrovirus zu infizieren, der eine Sequenz für das Enzym Luciferase enthielt. Nach Injektion dieser Zellen in Versuchstiere, die Zeichen der Krankheit zeigten, konnte eine Korrelation von biolumineszierenden T-Zellen und Läsionsorten der Arthritis verifiziert werden (23).

Einen weiteren Beleg für das Potential zum Immunzell-Imaging erbrachte ein Versuchsaufbau mit an autoimmuner Enzephalomyelitis erkrankten Mäusen. In dieser Studie gelang es, CD4-positive T-Zellen, welche spezifisch für das Myelin Basic Protein (MBP) waren, durch Anwendung eines retroviralen Vektors mit dem Gen für Luciferase zu versehen. Die Versuchstiere wurden gegen MBP immunisiert und entwickelten daraufhin Paralysen. Die T-Zellen wurden in diesem Zusammenhang als Initiatoren der auto-

immunen Destruktion des Gewebes angesehen. Die Biolumineszenz der markierten Immunzellen demonstrierte, dass eine Migration derselben zum Zentralnervensystem erfolgte (7).

Durch die Möglichkeit, die Migration diverser Immunzellen auf ihrem Weg durch den Organismus zu verfolgen und somit auch temporale Veränderungen der Immunantwort darzustellen, können neue Informationen zur Optimierung von Immunzelltherapien gewonnen werden. Am Beispiel des letztgenannten Mausmodells erfolgte eine Transduktion der T-Zellen mit dem Gen der p40-Untereinheit von Interleukin 12, welche daraufhin den symptomatischen Mäusen injiziert wurden. Die Mäuse zeigten daraufhin eine signifikante Reduktion der Krankheitszeichen. Es konnte also eindrucksvoll demonstriert werden, dass Immunzellen als ideale Vehikel für den Transport immunregulatorischer Moleküle fungieren können (7).

1.2.3.3. Neuerungen

Für die nahe Zukunft der Biolumineszenz wird erwartet das Problem der dreidimensionalen Darstellbarkeit zu lösen. Durch neue rotierende CCD-Kameras oder multiple Ansichten desselben Versuchstieres mit einer solitären CCD-Kamera, soll die Volumetrie künftig möglich werden.

Weiterhin soll die Initiierung neuer Luciferasen erfolgen, die Licht im Rotbereich emittieren, welches eine bessere Gewebepenetration aufweist. Die starke Einschränkung der BLI, nämlich die geringe Eindringtiefe, kann somit ebenfalls reduziert werden (24).

1.2.4. Fluoreszenz

1.2.4.1. Definition und allgemeine Grundsätze

Ein weiteres optisches Verfahren der molekularen Bildgebung ist das Fluoreszenz-Imaging. Bei diesem Verfahren wird sich das Protein der Qualle *Aequorea victoria* GFP („green fluorescent protein“) oder dessen Varianten, wie z.B. YFP („yellow fluorescent protein“) oder EGFP, zu Nutze gemacht. Durch diese oder andere im Organismus vorkommende Photosensitizer, wie z.B. Porphyrin IX (PpIX) (40) wird Gewebe oder bestimmte Zellen in fluoreszierendes Gewebe bzw. Zellen überführt. Der Wildtyp des GFP emittiert grünes Licht einer Wellenlänge von 509 nm, sobald es von violettem Licht einer Wellenlänge von 395 nm angeregt wird. Die Variante des Proteins EGFP besitzt ein verändertes Exzitationsspektrum zu längeren Wellenlängen hin und bietet eine bis zu 35fach erhöhte Helligkeit.

Als Reportergene fungierend werden für diese Proteine kodierende Gene in die gewünschte Zelle eingebracht. Anschließend erfolgt eine Exzitation mit sichtbarem Licht der Wellenlängen 395-600 nm, welche das Objekt illuminieren. Das emittierte Licht wird von einer CCD-Kamera detektiert, welche normalerweise eine Version mit geringerer Sensitivität derjenigen Kamera darstellt, die für die Biolumineszenz eingesetzt wird. Vorteilhaft gegenüber dem BLI ist die Tatsache, dass kein Substrat benötigt wird, um eine Visualisierung der gewünschten Zellen hervorzurufen. Des Weiteren besitzt die Fluoreszenz eine hohe Sensitivität von ca. 10^{-9} bis 10^{-10} mol/l. Schon eine Anzahl von 1000 bis 10000 fluoreszenzmarkierten Zellen in der Peritonealhöhle der Maus können auf der externen Oberfläche detektiert werden (24).

Nachteile des Verfahrens bestehen in der geringen räumlichen Auflösung von 2-3 mm und weiterhin auch in der sehr geringen Eindringtiefe von weniger als 1 cm, vergleichbar mit dem Verfahren der Biolumineszenz. Oberflächlich gelegene Zellen erscheinen heller als tiefer gelegenes Gewebe. Deshalb ist es unter Umständen nötig, Organe vor der Detektion durch die CCD-Kamera zu entnehmen (24).

Ein direkter Vergleich der beiden optischen Verfahren wurde bisher nicht publiziert. Ein entscheidender Unterschied kann allerdings genannt werden. Dieser besteht in der Observation eines signifikant erhöhten Hintergrundsignals beim Verfahren der Fluoreszenz, aufgrund der vorhandenen Autofluoreszenz diverser Proteine oder Aminosäuren z.B. Thyrosin, Tryptophan, Phenylalanin, Purine oder Nukleinsäuren. Diese besitzen Autofluoreszenzmaxima von 340 - 390 nm, welche allerdings ebenfalls unter pathologischen Veränderungen des Organismus verändert sein können. Beispielsweise konnte eine malignominduzierte Reduktion der Autofluoreszenz beim Bronchialkarzinom nach Anregung mit Licht von 442 nm belegt werden (40, 24).

Auch eine Kombination der Verfahren durch so genannte dualfunktionelle Reportergene, die sowohl für fluoreszierende Proteine als auch für Luciferase kodieren, ist möglich. Beispielsweise wurden in einer Studie CIK-Zellen (zytokinininduzierte Killerzellen) durch retrovirale Transduktion mit dem GFP-Luc-Dualfunktionreportergen versehen. Auf diese Weise war sowohl ein in-vivo-Imaging durch BLI als auch eine ex-vivo-Klassifizierung der Zellen durch fluoreszierende Marker möglich. Die Bioverteilung der Killerzellen zeigte eine Anreicherung derselben in subkutanen Lymphomzellen schon nach 72 Stunden. Nach weiteren 12 Tagen war eine deutliche Regression der tumorösen Läsion erfolgt (23).

Neben der Kombination der optischen Verfahren besteht auch die Möglichkeit, GFP unter die Kontrolle eines Promotors zu stellen, der unter physiologischen Bedingungen die Expression eines anderen Proteins bedingt. Am Beispiel der molekularen Bildgebung der Angiogenese, v.a. in der onkologischen Forschung, wurde GFP im transgenetischen Mausmodell unter Kontrolle des Promotors für VEGF gestellt. Nach Aktivierung des Promotors für diesen Wachstumsfaktor war es möglich, durch Fluoreszenz die Tumorangio-genese in den Mäusen bildlich darzustellen (8).

1.2.4.2. Spezifische Anwendungsgebiete der unterschiedlichen Photosensitizer

1.2.4.2.1. GFP

Auch die Fluoreszenz wird – ebenso wie die Biolumineszenz – zur Darstellung der Lymphozytenwanderung genutzt. Im transgenetischen Mausmodell wurden Versuchstiere kreiert, welche durch Reportertransgene für GFP Lymphozyten mit fluoreszierenden Eigenschaften exprimierten. Auf diese Weise konnte die ex-vivo-Markierung der Immunzellen umgangen werden (23).

Wie bereits erwähnt, findet die Fluoreszenz Anwendung in der molekularen Bildgebung maligner Tumoren anhand deren Angiogenese. Transgenetische Mäuse mit GFP-Produktion unter der Kontrolle des VEGF-Promotors wurden für diese Studie eingesetzt. Eine erhöhte Konzentration von GFP in Stromazellen maligner Tumoren fungierte hierbei als Parameter für eine analog erhöhte VEGF Produktion. Auf dieselbe Weise konnte diese Angiogenesedarstellung auch zur Verfolgung von Wundheilungsprozessen genutzt werden (6).

Eine weitere Möglichkeit zur Bildgebung der Angiogenese besteht in der Anwendung von Substraten der Matrix Metalloprotease 2 (MMP2). Diese Protease nimmt eine zentrale Stellung in der Induktion der Angiogenese ein. Nach Kopplung von MMP2-Substraten an Fluorochrome wie GFP bewirkte die Anwesenheit von MMP2 eine Abspaltung von GFP und somit eine Entfaltung der fluoreszierenden Eigenschaften (11).

Auch durch direkte Visualisierung von Tumorzellen wurde die Methode der Fluoreszenz in der onkologischen Forschung eingesetzt. Durch Herstellung einer GFP produzierenden 9L-Tumorzelllinie oder GFP exprimierenden Melanomzellen konnte ein Monitoring der Tumorbeltung des Organismus und auch der Ausbreitung der malignen Zellen in die regionalen Lymphknoten erfolgen (6).

1.2.4.2.2. *Protoporphyrin IX (Pp IX)*

Ebenso wie GFP wird der Photosensitizer Pp IX, ein Vorläufer in der Biosynthese des Häm, zur Bildgebung maligner Prozesse genutzt. Eine selektive Akkumulation des Pp IX konnte in Arealen gesteigerten Metabolismus wie z.B. Tumorzellen aufgezeigt werden. Eine Studie befasste sich mit diesem Thema, indem Pp IX induzierte Fluoreszenz in Colon und Vesica urinaria der Ratte registriert wurde. Im Vergleich zu gesundem Gewebe, konnten um den Faktor sechs erhöhte Fluoreszenzlevel in maligne verändertem Gewebe nachgewiesen werden (40).

Die frühe Detektion von Larynxkarzinomen oder Bronchialkarzinomen, aber auch Dysplasien oder Carcinomata in situ dieser Gewebe anhand Pp-IX-Fluoreszenz scheint ebenfalls Erfolg versprechend (40).

1.2.4.3. **Neuerungen**

Ein neuer Ansatz zur Verbesserung der Darstellung tiefer liegender Gewebestrukturen liegt in der fluoreszenzvermittelten Tomographie (24). Das Versuchsobjekt wird hierbei einer kontinuierlichen oder pulsierenden Lichtquelle ausgesetzt. Eine Reihe von Detektoren, arrangiert in einer definierten Reihenfolge, detektiert daraufhin das emittierte Licht. Durch mathematische Rekonstruktion resultiert aus dieser Information ein tomographisches Bild mit einer Auflösung von 1-2 mm. Die Schwelle für die Detektion der Fluorochrome liegt im nanomolaren Bereich.

Im Gegensatz zum Imaging fluoreszierenden Lichtes im sichtbaren Bereich ist es heute auch möglich, Licht im nahen Infrarotbereich (near infrared) – Wellenlänge 700-900 nm – zu nutzen (24). Aus diesem Grunde erhielt das Verfahren den Namen NIR. Auf diese Weise erfährt die Gewebspenetration eine entscheidende Verbesserung. Auch die Autofluoreszenz der umliegenden Zellen wird bei dieser Methode minimiert. Diese Verbesserung kann erklärt werden, da die größten Absorptionsquellen des Lichtes, Wasser und Hämoglobin, ihren niedrigsten Absorptionskoeffizienten im NIR-Bereich besitzen. Diverse NIR-Fluorochrome wie z.B. Cy 5.5., welche an andere Moleküle wie z.B. Peptide oder Antikörper gekoppelt werden können, sind zum heutigen Zeitpunkt erhältlich. Dennoch ist auch beim NIR der limitierende Faktor noch immer die Eindringtiefe. Die Lösung des Problems besteht in der Entwicklung neuer CCD-Kameras, die eine tomographische Darstellung auch von Sonden im NIR-Bereich erlauben. Neueste Ansätze zeigen ermutigende Resultate mit einer Auflösung von weniger als 3 mm und die Möglichkeit zur Detektion von Fluorochromen im femtomolaren Bereich. Ein Beispiel für die Anwendung dieser Cy-5.5-Fluorochrome ist ein Versuchsaufbau zur molekularen Bildgebung von Wundheilung oder Karzinommetastasierung (11). Es erfolgte die Konstruktion von kovalent gebundenen Cy-5.5.-Molekülen. Diese Bindung geschah über Peptidbrücken, welche proteasespezifische Primärsequenzen enthielten. In Anwesenheit von aktiven Proteasen, die beispielsweise bei der Wundheilungsreaktion ihre Wirkung entfalten, kam es zur Spaltung der beiden gekoppelten Moleküle. Infolgedessen erlangten diese ihre fluoreszierenden Eigenschaften und die Bildgebung war möglich.

1.2.5. **Magnetresonanztomographie – MRT**

1.2.5.1. **Definition und allgemeine Grundsätze**

Die MRT zählt zu den radiologischen Methoden der molekularen Bildgebung, die seit Mitte der 70er Jahre die Diagnostik dieser Fachrichtung revolutionierte. Alle Atome mit einer ungeraden Nukleonenzahl, insbesondere aber einer ungeraden Protonenzahl, wie z.B. ^1H , ^{13}O , ^{19}F etc., sind für die Bildgebung mittels MRT geeignet. Vor allem das Wasserstoffproton ist für diese Methode relevant. Im Gegensatz zum Fluoratom

kommt dieses ubiquitär im menschlichen Organismus vor. Die Grundlage der Bildgebung besteht in der Tatsache, dass die Kerne einen von Null verschiedenen Gesamtdrehimpuls aufweisen. Aus diesem Grund kommt es zu einem magnetischen Dipolmoment. Diese in unzähliger Menge im Körper vorkommenden „Magnete“ besitzen unter physiologischen Bedingungen keine geordnete Richtung. Wenn sie allerdings einem von außen einwirkenden Magnetfeld ausgesetzt werden, kommt es zur Orientierung der Wasserstoffprotonen entlang einer Achse, wobei zwei Spin-Ausrichtungen in Relation zur Hauptmagnetfeldachse erzielt werden können. Es handelt sich um einen parallelen (energieärmeren) und einen antiparallelen (energiereicheren) Zustand. Nach dieser Anregung der Protonen kommt es zur Relaxation der antiparallelen, energiereichen Protonen. Bei diesem Vorgang verlieren die Protonen ihre eingestrahlte Energie wieder und bewegen sich auf ihren alten Gleichgewichtszustand zurück. Die Relaxation wird von zwei Zeitkomponenten beschrieben, welche T1 und T2 genannt werden. Die T1-Zeit wird auch longitudinale Relaxationszeit genannt und ist diejenige Zeitkonstante, die den Wiederaufbau des Gesamtmagnetisierungsvektors in Richtung des Hauptmagnetfeldes beschreibt. Abhängig ist sie hauptsächlich davon, wie schnell die Protonen ihre aufgenommene Energie wieder verlieren. Dies wiederum wird entscheidend von dem umgebenden Gewebe der H^+ bestimmt, weshalb die T1-Zeit auch als Spin-Gitter-Relaxation bezeichnet wird. Im Gegensatz dazu ist die T2-Zeit (transversale Relaxationszeit) die Zeitkonstante, die die Abnahme der Größe des Gesamtmagnetisierungsvektors in transversaler Richtung zum Hauptmagnetfeld beschreibt. Diese Zeit ist im Wesentlichen von der Beeinflussung der einzelnen Spins untereinander abhängig. Aus diesem Grund erhielt die T2-Zeit auch das Synonym Spin-Spin-Relaxation (31). Die Relaxation der Spins wird als Änderung im elektromagnetischen Flux in Form von Radiowellen von 1-100 MHz detektiert (24). Wie schon beschrieben ist die T1-Zeit abhängig von dem umgebenden Gewebe der Protonen. Dieses Phänomen ist der entscheidende Weg, auf dem die Kontrastierung der MRT erreicht wird. Beispielsweise haben Dipole in fettreicher Umgebung eine wesentlich kürzere Relaxationszeit als Dipole in wasserreicher Umgebung (10). Den besten Erfolg der Bildgebung erzielt diese Methode in der Darstellbarkeit eines guten Weichteilkontrastes und auch pathologischen Prozessen des Weichteilgewebes.

Zwei wesentliche Vorteile der MRT gegenüber nuklearmedizinischen oder optischen Methoden sind zum einen die extrem hohe Auflösung von 25-100 μm und zum anderen die Tatsache, dass sowohl anatomische- als auch molekulare Bildgebung simultan erfolgen (24). Weiterhin ist zu betonen, dass diese Art der Bildgebung nicht mit Strahlenbelastung für den Organismus verbunden ist. Allerdings ist die Sensitivität dieser Methode wesentlich geringer als diejenige der beiden anderen oben genannten Gebiete. Sie beträgt bei der Magnetresonanztomographie nur 10^{-3} bis 10^{-5} mol/l, weshalb die Konzentration der Sonde hier entscheidend höher sein muss. Die ungünstige „signal-to-noise-ratio“ wird noch verschlechtert durch das geringe Wasservolumen, welches in einem Voxel eines mikroskopischen Bildes enthalten ist. Ein Versuch der Problemlösung besteht in der Verlängerung der Aquisitionszeiten, welche bei der MRT ungünstig lange ausfallen, oder in einer Erhöhung des magnetischen Feldes (24).

Die funktionelle Bildgebung kann bei der MRT durch Moleküle erzielt werden, die eine Änderung der Relaxationszeiten der Wasserstoffprotonen bewirken und somit das entstehende Signal verändern. Die relative Menge dieser Moleküle kann somit gemessen werden. Des Weiteren können molekulare Sonden, die mit diesen Metallen markiert wurden, zur Detektion der molekularen Reaktion genutzt werden (10). Diese erweiterte Nutzbarkeit der MRT wird funktionelle Magnetresonanztomographie genannt. Im Wesentlichen werden zwei unterschiedliche Arten von Kontrastmitteln unterschieden. Paramagnetische (gadoliniumgekoppelt) oder supraparamagnetische (eisenoxidhaltig) Metalle werden an verschiedene Carrier wie Liposomen, Emulsionen, Polymere, virale Kapside oder Mizellen gekoppelt. Eine weitere Unterteilung erfolgt anhand des Molekulargewichtes der eingesetzten Sonden (27). Paramagnetische Agenzien mit

niedrigem Molekulargewicht von weniger als 1000 Dalton zeichnen sich durch ihre schnelle Diffusion in den Extrazellarraum aus. Die Kontrastverstärkung beruht im T1-gewichteten Bild bei dieser Art der Kontrastmittel auf einer Verkürzung der Relaxationszeit im vaskulären und extrazellulären Raum. Im klinischen Gebrauch sind heute vor allem diese Kontrastmittel zu finden. Hochmolekulare Kontrastmittel wie z.B. MION's (monokristalline Eisenpartikel) besitzen ein Gewicht von mehr als 30 000 Dalton und wurden konstruiert, um eine verlängerte Retentionszeit im intravasalen Raum zu erzielen. Diese befinden sich zum heutigen Zeitpunkt noch weitgehend in präklinischen Entwicklungsstadien. Nur wenige Eisenoxide sind derzeit für die Anwendung im menschlichen Organismus zugelassen.

1.2.5.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Kontrastmittel

1.2.5.2.1. Molekulare Bildgebung des $\alpha_v\beta_3$ Integrins

Zur Darstellung des $\alpha_v\beta_3$ Integrins wurden paramagnetische polymerisierte Liposomen genutzt, die spezifische Antikörperliganden für dieses Integrin enthalten. Nach 24 Stunden wurde eine ausreichende Akkumulation der Liposomen zum Targeting der Tumorangio-genese maligner Tumoren erreicht.

Auf ähnliche Art und Weise können auch flüssige Perfluorcarbonnanopartikelemulsionen eingesetzt werden. Hierbei ist die Detektion des Integrins schon nach einer Stunde Zirkulationszeit möglich. Ein sehr spezifischer Uptake konnte im in-vivo-Experiment nachgewiesen werden. Für diese Partikel konnte bis heute die höchste longitudinale Relaxationszeit pro Molekularbindung nachgewiesen werden, weshalb scheinbar schon Konzentrationen im picomolaren Bereich zur Detektion einzelner Zellen genügen (39).

1.2.5.2.2. Darstellung maligner Prozesse durch niedermolekulare oder hochmolekulare Kontrastmittel

Die bildliche Darstellung maligner Tumoren gelingt nicht nur über rezeptorvermittelte Reaktionen. Sobald ein Bolus paramagnetischen Kontrastmittels appliziert wird, gelangt es passager auch in den vaskulären Raum. In den meisten Geweben (Ausnahmen sind Gehirn, Retina und Hoden) gelangt es schnell in den extravaskulären, extrazellulären Raum. Die Akkumulation in diesem Raum wird bestimmt durch die Permeabilität und Oberflächenbeschaffenheit der Kapillaren, aber auch durch den Blutfluss. In der Umgebung maligner Prozesse allerdings gelangt schon während des First-Pass-Prozesses eine größere Menge Kontrastmittel in den extravasalen Raum, da die Gefäßpermeabilität pathologisch erhöht ist (27).

Die Darstellung maligner Tumoren durch Messung ihrer Hyperpermeabilität soll künftig durch den vermehrten Einsatz hochmolekularer Kontrastmittel noch verbessert werden. Aufgrund ihrer Eigenschaft, unter physiologischen Bedingungen länger im Intravasalraum zu verbleiben, ist die vermehrte Anreicherung der Moleküle im Extravasalraum aufgrund erhöhter Permeabilität tumoröser Gefäße besonders gut darstellbar (27). Die Differenzierung diverser benignen oder malignen Tumore ist bisher schon gelungen. Im Bereich der Leber konnte anhand des unterschiedlichen Signals eine Differenzierung zwischen Hepatomen, Hämangiomen oder metastatischen Absiedelungen erfolgen (27). Eine weiterhin mögliche Unterscheidung konnte für Mammakarzinome im Gegensatz zu Fibroadenomen der Mamma gezeigt werden (27). Auch in die neurologische Praxis haben die paramagnetischen Kontrastmittel Einzug gefunden. Neben der Diagnostik des Apoplex besteht hier ebenfalls die Möglichkeit zur Detektion intrazerebraler Tumoren anhand derer Angiogenese. Vor allem Astrozytome werden hinsichtlich ihrer Diagnose und Prognose nach therapeutischer Radiatio beurteilt (27). Des Weiteren konnte eine Differenzierung von benigner Prostatahyperplasie und Prostatakarzinom erfolgen (27). Erwähnenswert bei dieser Art der molekularen Bildgebung ist auch der Fortschritt in der Verlaufsbeurteilung einer chemotherapeutischen Behand-

lung bei Harnblasenkarzinomen, Mammakarzinomen oder Sarkomen. Am Beispiel des Mammakarzinoms konnte jüngst gezeigt werden, dass die Reduktion der transendothelialen Permeabilität mit dem Erfolg der Chemotherapie korrelierte, wohingegen eine gleichbleibend erhöhte Permeabilität dem Nichtansprechen des Tumors auf Zytostatika entsprach (27).

Mit Hilfe der Magnetresonanztomographie ist es auch gelungen, eine Verbindung zwischen Hyperpermeabilität und Angiogenese aufgrund einer Überexpression von VEGF herzustellen. Die hohe Expression von VEGF konnte durch Immunhistochemie in Gebieten vermehrter Gefäßpermeabilität nachgewiesen werden. Diese Hyperpermeabilität wiederum konnte anhand einer hohen Akkumulationsrate von Albumin-GdDTPA gezeigt werden. Die Suppression von VEGF durch spezifische Antikörper resultierte wiederum auch in Reduktion der Hyperpermeabilität (25).

1.2.5.2.3. *BOLD (blood oxygenation level dependent imaging)*

Dieses Verfahren nutzt die paramagnetischen Eigenschaften von Desoxyhämoglobin. Aufgrund dessen fungiert das Hb als intrinsisches Kontrastmittel. Nutzbar ist die paramagnetische Natur ebenfalls zur Darstellung maligner Tumoren anhand Ihrer Blutversorgung. Erwiesen ist der erhöhte Gefäßdurchmesser in Malignomen resultierend in vermehrtem Blutvolumen (22). Auch eine Modulation der Angiogenese konnte auf diese Art und Weise detektiert werden (8).

1.2.5.2.4. *Tumor-Imaging mit Hilfe des Transferrinrezeptors*

Die Visualisierung der Genexpression ist über eine Induktion der Rezeptorexpression auf der Zelloberfläche gelungen, welche zur Internalisierung magnetischer Substanzen ins Zellinnere führt. Ein Beispiel für die Anwendung der rezeptorvermittelten Bildgebung besteht in der Nutzung des Transferrinrezeptors. Die Hochregulation der Expression des Transferrinrezeptors resultiert in einer verstärkten Eisenaufnahme in das Zellinnere. Die Diagnostik maligner Tumoren ist möglich, da der humane Transferrinrezeptor auf einer Reihe von Malignomzellen in verstärktem Maße gebildet wird (6).

1.2.5.3. **Neuerungen**

1.2.5.3.1. *Technische Neuerungen*

Eine Extension der Magnetresonanztomographie im Bereich des Kleintier-Imaging ist die Magnetresonanzmikroskopie. Dadurch wird es künftig möglich sein, eine perfusionsfixierte Maus ohne vorherige Sektion des toten Tieres darzustellen. Hierbei kann eine dreidimensionale räumliche Auflösung von 110 μm erzielt werden. Bei isolierten Organen war eine Auflösung von 25 μm erreichbar (24).

Eine weitere technische Neuerung besteht in der Entwicklung der so genannten Magnetresonanzspektroskopie (MRS). Bei diesem Verfahren erhält man ein charakteristisches Bildspektrum, erzeugt durch spezifische Resonanzfrequenzen, welche dann vom Gewebe absorbiert werden. Diese Spektren sind von der chemischen bzw. molekularen Beschaffenheit des Gewebes abhängig. Am besten geeignet für MRS erwiesen sich die Kerne von Wasserstoff, Phosphor oder Natrium. Wasserstoff-MRS bietet die Vorteile einer größeren „signal-to-noise ratio“ und einer besseren räumlichen Auflösung als Phosphor-MRS (24). Die Spektralkomponenten in lebenden Objekten entstammen Metaboliten oder Aminosäuren, wie z.B. Cholin, Creatin, Lactat, Leucin oder Alanin (24).

Eine Kombination nuklearmedizinischer sowie magnetresonanztomographischer Sonden ermöglicht eine simultane Bildgebung der Verfahren PET und MRT. Die Vorteile beider Verfahren, vor allem die exakte anatomische Darstellung, lassen sich durch diese PET/MRT-Scanner kombinieren (24).

1.2.5.3.2. Neuerungen auf dem Gebiet der Kontrastmittel

Durch die Entwicklung diverser neuer Kontrastmittel konnte seit einiger Zeit die Indikation zur Diagnostik mit Hilfe der Magnetresonanztomographie erweitert werden.

Die Produktion so genannter „cold spot agents“ durch Kombination von Carriern mit Eisenoxiden wie z.B. USPIOs („ultrasmall particles of iron oxide“) oder alternativ Lanthanidenspezies zeigte bis zum heutigen Zeitpunkt erhebliches Potential zur Darstellung atherosklerotischer Plaques. Die Ursache für die Möglichkeit dieser Art von Bildgebung liegt in dem Uptake dieser USPIOs in Plaquemakrophagen. Dennoch erweist sich die Darstellung von „cold spots“ bis heute als problematisch im Vergleich zu leicht detektierbaren „hot spots“ (39).

So genannte „smart agents“ sind durch eine Aufnahme in alle Zellen des Organismus gekennzeichnet. Eine Aktivierung der Zellen ist abhängig von der Anwesenheit spezifischer Enzyme, welche nur unter pathologischen Bedingungen oder aufgrund therapeutischer Intervention im Intrazellularraum produziert werden. Ein Beispiel für diese Kontrastmittel ist an Galactopyranose gebundenes Gadolinium. Die Kombination dieser beiden Moleküle verhindert das Eindringen von Wasser. Somit kommt es nicht zur Entstehung eines Signals zur MRT-Bildgebung. In Anwesenheit des Enzyms β -Galactosidase allerdings findet eine Abspaltung der Galactopyranose statt und es kommt zur Interaktion mit Wasserprotonen, die eine Verminderung des T1-Signals von mehr als 50% bedingen (39, 6).

1.2.6. Computertomographie – CT

1.2.6.1. Definition und allgemeine Grundsätze

Bei der Anfang der 70er Jahre in die klinische Praxis eingeführten Computertomographie handelt es sich um ein Röntgenschnittverfahren, welches zum Bildaufbau einen Computer verwendet. Die Strahlung einer Röntgenröhre passiert analog der konventionellen Radiologie den menschlichen Körper. Auf diesem Weg erfolgt beim Auftreffen auf unterschiedliche Gewebsstrukturen eine Schwächung dieser Strahlung in unterschiedlicher Intensität. Diese Schwächungsintensität ist abhängig von der Dichte der jeweiligen Struktur. Auf der gegenüberliegenden Seite befindet sich ein Kranz von elektronischen Strahlendetektoren, der die Intensitätsminderung der Röntgenstrahlung misst. Von einem Computer werden Millionen von Messungen verschiedener Absorptionen in kleinen Volumenelementen des Körpers errechnet und zu einem Schnittbild zusammengefügt. Im Gegensatz zum konventionellen Röntgenbild entsteht also bei diesem Verfahren keine Überlagerungsprojektion sondern eine Darstellung des Organismus in Querschnittsbildern. Eine projektionsfreie Bildgebung der Organe kann demnach erzeugt werden (31). Die Querschnittsscheiben können eine Dicke von zwei, acht oder zehn Millimeter haben. Dem errechneten Schwächungskoeffizienten wird eine CT-Zahl zugeordnet, die nach dem Begründer der CT, Hounsfield-Einheit (HE) benannt wurde. Es existiert eine Skalierung der Hounsfield-Einheiten, welche dem ersten Fixpunkt einen Wert von 0 zuordnet. Dieser entspricht dem Dichtewert von Wasser. Als zweiter Fixpunkt wurde mit minus 1000 HE der Dichtewert von Luft gewählt (32). Über 2000 verschiedene Dichtewerte sind unterscheidbar, die in bis zu 20 verschiedenen Graustufen abgebildet werden.

Während der Untersuchung wird der Tisch kontinuierlich in Körperlängsachse verschoben, während die Röhre z.B. 1-2 mal pro Sekunde um den Patienten rotiert (31).

Mit Hilfe der Computertomographie können räumliche Auflösungen von 50-200 μm erzielt werden (24). Mit Voxelgrößen von weniger als $10^3 \mu\text{m}^3$ ist es möglich, sogar zelluläre Läsionen, wie z.B. osteoklastische Erosionen des Knochens darzustellen (29). Scanningzeiten für die Darstellung einer gesamten Maus mit einer Auflösung von 100 μm betragen ca. 15 Minuten. Für eine höhere Auflösung ist eine Verlängerung der Aquisitionszeit nötig (24).

Nachteile bestehen in einer hohen Strahlendosis, welcher der Organismus ausgesetzt ist (1). Folglich kann es zu einer Limitierung der wiederholten Anwendungen kommen, welche sowohl einen sofortigen Strahlenschaden oder auch genetische Schädigungen des Organismus zur Folge haben können (29). Im Gegensatz zu der MRT wird bei der CT nur ein ungenügender Weichteilkontrast erreicht, weshalb oftmals die Anwendung von iodhaltigen Kontrastmitteln nötig ist, um eine hinreichende Abgrenzung der Organe oder auch Tumoren zu ermöglichen (24). Aufgrund der geringen Sensitivität (25) dieser Methode sind Konzentrationen von 10^{-2} mol erforderlich, um eine ausreichende Kontrastierung zu erreichen (37).

Bei der Computertomographie steht zum heutigen Zeitpunkt noch die morphologische bzw. anatomische Bildgebung bei der Anwendung im klinischen Alltag im Vordergrund. Sie kann deshalb nicht per se als Methode der Molekularen Bildgebung bezeichnet werden. Allerdings existieren heute schon unterschiedliche Ansätze, welche die Computertomographie auch für die molekulare bzw. funktionelle Bildgebung nutzbar machen. Auf diese Weise wird eine Verknüpfung mit der ihr eigenen exzellenten anatomischen Darstellung ermöglicht (24). Für die Anwendung CT-spezifischer Sonden zur molekularen Bildgebung biologischer Prozesse ist deren Iodierung oder Kopplung an andere Moleküle mit einer hohen Nukleonenzahl (z.B. Schwermetalle) nötig, welche daraufhin Röntgenstrahlen absorbieren. Dennoch bleibt die Anwendung dieser Methode für die molekulare Bildgebung begrenzt. Im klinischen Gebrauch findet sich heute eine Darstellung des vaskulären Systems oder der Gewebspermeabilität, wohingegen die Einführung weiterer markierter Sonden mit Brom, Xenon oder Strontium noch im Versuchsstadium anzusiedeln ist (15). Die Problematik der klinischen Anwendung besteht wiederum in der geringen Sensitivität des Verfahrens, weshalb die Applikation extrem hoher Dosen der Sonden notwendig ist, um eine ausreichende Abbildungsqualität zu erzielen.

1.2.6.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Computertomographie als Methode der molekularen Bildgebung

1.2.6.2.1. Iodmarkierte Carboanhydrate

Die zum heutigen Zeitpunkt gängigste Methode zur Darstellung funktioneller Vorgänge mit Hilfe der Computertomographie besteht in der selektiven Bildgebung des regionalen, intravaskulären Blutflusses. Durch Injektion iodmarkierter Carboanhydrate in das Gefäßlumen kommt es zur Kontrastierung des intravaskulären Blutes, woraufhin Veränderungen der vaskulären Strukturen in pathologischen Prozessen detektierbar sind. Dies beruht auf der hohen Affinität der Carboanhydrase zu Zuckern, welche im Blut in relativ hohen Konzentrationen toleriert werden (29).

Mit Hilfe dieser Kontrastmittel gelingt des Weiteren eine Darstellung des Extrazellulär- und des endothelialen Permeabilität, da ein Teil der applizierten Sonde das Gefäßsystem durch endotheliale Lecks verlässt und für einige Minuten im extravaskulären Raum kumuliert. Eine erhöhte Permeabilität lässt wiederum Rückschlüsse auf das Vorhandensein pathologischer Prozesse im Sinne maligner Transformationen zu, da es aufgrund reduzierter Oxygenierung zu einer verstärkten Leckage des Kontrastmittels kommt (29).

Als weitere Option besteht die Möglichkeit der Beurteilung der quantitativen Nierenfunktion, da diese Art der Kontrastmittel vorrangig auf renalem Wege eliminiert werden und es für einige Minuten zu einer Darstellung der Nieren kommt (29).

1.2.6.2.2. Weitere Kontrastmittel

Derzeit noch in der präklinischen Forschung befinden sich einige weitere Kontrastmittel, mit deren Hilfe die Nutzung der Computertomographie zur molekularen Bildgebung künftig noch erweitert werden soll. Beispielsweise steht Barium zur Verfügung, welches

unlösliche Salze bildet und auf diese Weise zur Darstellung der Atemwege oder des Darmes beitragen soll. Andere erwähnenswerte Elemente sind Brom zur Kontrastierung des Magens oder Xenon zur bildlichen Darstellung der Belüftungsverhältnisse in der Lunge oder der Perfusionsverhältnisse im Gehirn (29).

Der Einsatz des Schwermetalls Strontium ermöglicht eine quantitative Darstellung des lokalen Knochenwachstums, da es anstelle von Calcium im Knochen deponiert wird. Die wiederholte Applikation von Strontium führt also zur Einlagerung von Banden zwischen das physiologisch abgelagerte Calcium des Knochens. Das Verfahren soll zukünftig in der Diagnostik der Osteopetrose Einzug in den klinischen Alltag finden. Diese Art der Replatzierung eines physiologischen Elementes durch ein appliziertes Element kommt auch bei der Anwendung von Osmiumtetroxid zum Tragen, welches anstelle von Lipiden in die Biomembranen der Zellen eingebaut wird, woraufhin diese in der CT zur Darstellung kommen (29).

1.2.6.2.3. Molekulare Bildgebung ohne Anwendung von Kontrastmitteln

Auch ohne Applikation von Kontrastmitteln gelingt in der Computertomographie die Visualisierung molekularer Vorgänge, da in einigen Geweben des Organismus Schwermetalle eingelagert werden, welche zu einer veränderten Absorption von Röntgenstrahlen führen. Hervorzuheben sind hier das Iod in der Schilddrüse oder das Eisen im Hämoglobin oder der hämochromatotischen Leber. Die Elemente liegen in Konzentrationen vor, die eine Detektierung pathologischer Veränderungen durch Erhöhung oder Verminderung des Bildkontrastes auf dem computertomographischen Bild gerade ermöglichen. Die mikroanatomische Information dieser Bilder besteht beispielsweise in der Diagnostik genetisch determinierter Krankheiten wie der polyzystischen Degeneration der Leber (29).

1.2.6.3. Neuerungen

Technische Neuerungen finden sich vor allem durch die Kombination der Computertomographie mit anderen Methoden der molekularen Bildgebung, wie z.B. SPECT, PET oder BLI. Die einzelnen Schwachstellen der Verfahren sind auf diese Weise korrigierbar und ermöglichen eine verbesserte und frühzeitigere Diagnostik pathologischer Veränderungen. Besonders betont werden soll hierbei die Einführung von PET/CT-Scans, welche einen bedeutenden Fortschritt in der Diagnostik maligner Tumoren mit sich bringen sollen. Die Darstellung der Malignome geschieht nicht nur in exakter anatomischer Weise, sondern erlaubt auch die Beurteilung ihrer funktionellen Aktivität, da es aufgrund der vorherrschenden anaeroben Glykolyse zu einer vermehrten Aufnahme von FDG kommt. Auf diese Weise erlaubt das Verfahren sowohl eine prognostische Einschätzung der Erkrankung als auch eine Entscheidungshilfe im Hinblick auf therapeutische Interventionen (23, 29).

1.2.7. Ultraschall

1.2.7.1. Definition und allgemeine Zielsetzungen

Auch die Sonographie wird heute zu den Methoden der molekularen Bildgebung gezählt, obwohl auch hier die rein morphologische Abbildung im Vordergrund steht. Durch die Einführung spezifischer Ultraschallverstärker bietet aber auch der Ultraschall vermehrt die Möglichkeit zur funktionellen Bildgebung (24). Diese Art der Kontrastmittel beruht auf dem Prinzip von Mikrobläschen, die durch den hohen Impedanzsprung an ihrer Oberfläche zu einer Signalverstärkung führen. Infolgedessen kommt es zu einer erhöhten Rückstreuung der Ultraschallwellen. Der Transducer empfängt nun wiederum ein verstärktes Echosignal (31).

Die Technik der Sonographie basiert auf der Erzeugung von Ultraschallwellen an der Körperoberfläche. Diese entstehen sobald ein hochfrequentes Wechselfeld an einen piezoelektrischen Kristall (z.B. aus Quarz, Bariumtitanat, Lithiumniobat etc.) angelegt wird (31). Die genannten Materialien verfügen über die Eigenschaft, sich bei Anlegen des elektrischen Wechselfeldes auszudehnen bzw. zusammenzuziehen. Durch die akustische Ankopplung an die Haut des Patienten kommt es zu einer räumlichen Ausbreitung der Schallwellen in den Körper hinein (31). Die Entstehung des Ultraschalls fußt also auf der Umwandlung elektrischer Schwingungen in mechanische Schwingungen, welche sich in Materie ausbreiten (31). Im diagnostischen Ultraschall werden Frequenzen zwischen 1 und 15 MHz eingesetzt. Dieser Frequenzbereich ermöglicht eine nebenwirkungsfreie Arbeit am Patienten (24).

Die applizierte Schallwelle erfährt durch unterschiedliche Gewebsstrukturen Modifikationen. Diese lassen sich subsummieren in:

- Absorption der schwingenden Materieteilchen nach Anregung aus ihrer Ruhelage, woraufhin es zu einer Verminderung der Schwingungsamplitude kommt.
- Brechung und Streuung: Sobald die Schallwelle auf Grenzflächen bzw. Inhomogenitäten trifft, kommt es zu einer Brechung des Schalls nach dem Gesetz Einfallswinkel = Ausfallswinkel, wobei der Schall hierbei nicht in den Schallkopf zurückreflektiert und registriert wird. Die Streuung ist umso stärker, je kleiner die Wellenlänge ist.
- Reflexion: Diejenigen Schallwellen, die senkrecht auf eine Oberfläche treffen werden reflektiert und folglich im Schallkopf registriert. Dort erzeugen sie im Kristall einen elektrischen Impuls, der dann weitergeleitet wird. Je höher hierbei der Impedanzsprung zwischen zwei Geweben ist, desto mehr Energie wird reflektiert (31). Das nach elektronischer Bearbeitung der registrierten Echos entstehende Bild kann auf unterschiedliche Art und Weise erzeugt werden:
 - Eindimensionale A-Mode-Darstellung: Bei diesem Verfahren werden die registrierten Echos als vertikale Auslenkung des Elektronenstrahls einer horizontal schreibenden Oszillographenröhre sichtbar gemacht. Die Amplitudenhöhe entspricht der Intensität der Echos, während die Breite der Kurve die Tiefe des Entstehungsortes widerspiegelt.
 - Eindimensionale B-Mode-Darstellung: Diese ähnelt dem obigen Verfahren, wobei die Intensität der Echos allerdings nicht durch die Höhe des Amplitudenauschlages bestimmt wird, sondern durch die Helligkeit von auf der x-Achse liegenden Punkten dargestellt wird.
 - M-Mode: Obwohl der Schallkopf in seiner Position nicht verändert wird, bewegt sich ein B-Bild kontinuierlich von links nach rechts. Bewegungen innerhalb des durchschallten Gewebes stellen sich somit auf dem Bildschirm als Wellenlängen dar. Unbewegte Objekte allerdings werden als Striche registriert.
 - Zweidimensionale B-Mode-Darstellung: Dieses Verfahren wird heute in der bildgebenden Diagnostik vorrangig eingesetzt. Durch Aneinanderreihung vieler eindimensionaler B-Bild-Zeilen entsteht ein zweidimensionales B-Bild. Voraussetzung hierfür ist der Einsatz unterschiedlicher Scanningtypen. Von Real-Time-Sonographie spricht man, wenn der Bildaufbau der zweidimensionalen Querschnittsbilder mit einer Geschwindigkeit von 20-mal pro Sekunde erfolgt. Auf diese Weise kommt es zu bewegten Bildern (31, 24).

Zusammengefasst ist der Ultraschall eine in der klinischen Diagnostik, aufgrund seiner Kostengünstigkeit, Verfügbarkeit und Sicherheit weit verbreitete Methode (24). Nachteilig ist die limitierte räumliche Auflösung des Verfahrens von 50-500 μm (24). Auch die Eindringtiefe bleibt auf einige Millimeter bis Zentimeter limitiert (24).

1.2.7.2. Spezifische Anwendungsgebiete der Mikrobläschen

1.2.7.2.1. Darstellung der Mikrozirkulation

Aufgrund des relativ geringen Impedanzunterschiedes zwischen zellulären Bestandteilen des Blutes und des Blutplasmas besteht hier eine weit geringere Echogenität im Vergleich zum Gewebe. Aus diesem Grund wird ein Kontrastmittel benötigt, um die Echos der Kapillaren sichtbar zu machen. Derzeit gängige Ultraschallkontrastmittel sind abgekapselte Mikrobläschen mit einem Durchmesser von 1-10 μm . Mikrobläschen wie Optison® oder Definity® enthalten Perfluorcarbon in einer Hülle aus denaturiertem Albumin bzw. Phospholipiden. Andere Kontrastmittel wie Albunex® sind luftgefüllte Mikrobläschen mit einer Hülle aus denaturiertem Albumin. Während der Ultraschalluntersuchung wird dem Patienten eine Suspension von wenigen Mikrolitern des Kontrastmittels intravenös injiziert. Die rheologischen Eigenschaften der Mikrobläschen im Blutstrom ähneln denen von Erythrozyten. Die hohe Echogenität der Bläschen kommt zustande durch die Unterschiede in Kompressibilität und Dichte im Vergleich zu Gewebe oder Plasma (9). Klinischen Einsatz finden diese Mikrobläschen in unterschiedlichen Fachgebieten. In der Kardiologie ermöglichen sie eine Quantifizierung der Perfusion des Herzens anhand der Echokardiographie. Des Weiteren sind sie diagnostische Hilfsmittel in der Onkologie, da die Hypervaskularisierung unterschiedlicher Tumoren, wie z.B. Mamma-Ca oder Prostata-Ca zur Darstellung kommt (9).

1.2.7.2.2. Thrombusdetektion

Ein Erfolg versprechender Ansatz auf dem Gebiet des Ultraschalls ist die Detektion eines Thrombus durch aktive Zielerfassung, d.h. Bindung der Mikrobläschen an spezifische Liganden. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden spezifische Mikrobläschen mit einer Lipidhülle designed (MRX-408, MRX-408A1). Diese enthalten in ihrer Lipidhülle die Peptidsequenz Arg-Gly-Asp (RGD). Diese RGD-Sequenz zeigt Adhäsion an die Rezeptoren für Fibrinogen oder den von-Willebrand-Faktor, wie auch an verschiedene Integrine. MRX-408 bindet spezifisch an den GPIIb/IIIa-Rezeptor auf aktivierten Plättchen. In-vitro-Studien mit künstlich generierten Thromben zeigten eine Signalverstärkung des Thrombus auf den neunfachen Wert im Vergleich zu Ultraschallaufnahmen ohne die Applikation von Mikrobläschen (9). Mit Hilfe dieser Kontrastmittel soll die Diagnostik tiefer Beinvenenthrombosen oder auch von Thromben im Bereich des Herzens entscheidende Verbesserung erfahren.

1.2.7.2.3. Darstellung von Entzündungsherden

Die Entzündungsdiagnostik mit Hilfe des Ultraschalls kann sowohl auf unspezifische, als auch auf spezifische Weise (also durch Bindung an spezifische Liganden) erfolgen. Die unspezifische Methode basiert auf der Anhäufung von Mikrobläschen mit Albuminhülle (Optison® oder MP1950) im Bereich aktivierter Leukozyten. Im Mausmodell konnte eine Akkumulation von Mikrobläschen im Gebiet adhärenter Leukozyten in Venolen eines künstlich generierten Entzündungsgebietes nachgewiesen werden. Durch diese Mikrobläschenakkumulation konnte eine Signalverstärkung um das 40fache erzielt werden.

Die spezifische Methode zur Detektion von inflammatorischen Herden basiert auf der Herstellung von Mikrobläschen mit Lipidhülle. Diese enthält einen monoklonalen Antikörper gegen ICAM-1. Dieses Molekül spielt wiederum eine Rolle bei der Adhäsion von Leukozyten an die Endothelzellwand im Entzündungsgebiet. Auch hier konnte im Tiermodell ein 40fach erhöhtes Signal im Vergleich zu nativen Ultraschallaufnahmen gezeigt werden (9). Ein weiterer Ansatz besteht im Einsatz von Mikrobläschen, welche in ihrer Phospholipidhülle einen Antikörper gegen das Adhäsionsmolekül P-Selek-

tin integriert haben. Da P-Selektin im Entzündungsgebiet von Endothelzellen exprimiert wird, konnte hier ebenfalls eine starke Akkumulation dieser Bläschen festgestellt werden. Da dieses Adhäsionsmolekül aber auch in ischämischen Gebieten exprimiert wird, konnte im Mausmodell auch eine vermehrte Anreicherung der Mikrobläschen in Arealen gemessen werden, in denen eine Ischämie gefolgt von Reperfusion erzeugt wurde (9).

1.2.7.3. Neuerungen

Ein neuer Ansatz auf dem Gebiet des Ultraschalls ist die Ultraschall-Biomikroskopie. Dieses Pulsecho-Schallverfahren bedient sich hoher Frequenzen von 20-100 MHz. Auf diese Weise ermöglicht dieser Ansatz die Bildgebung lebender biologischer Objekte im Bereich nahezu mikroskopischer Auflösungen von 50-100 μm . Ein weiterer Vorteil dieser Technik ist die Farbdopplerdarstellung des Blutflusses. Auf diese Weise soll künftig eine exakte Darstellung der Mikrozirkulation erzielt werden (24).

Die Ultraschalltechnik soll in Zukunft auch der therapeutischen Intervention im Sinne von Medikamenten transportierenden Vehikeln dienen. Typischerweise besitzen diese Transportvehikel einen Gaskern und eine Hülle, welche das Medikament suspendiert. Insonation führt zu einer Zerstörung des Mikrobläschens, und es resultiert eine Dispersion der Hüllfragmente. In der Folge kommt es zu einer Extravasion des Inhaltes in das umliegende Gewebe (9).

2. Zielstellung

Eine bis zum heutigen Zeitpunkt noch immer aktuelle Kontroverse besteht in der Frage nach der möglichen Quantifizierbarkeit der SPECT, wobei die Möglichkeit der absoluten Quantifizierung bisher nicht nachgewiesen werden konnte.

Die hier vorliegende Arbeit widmet sich diesem Thema. Im Folgenden wird aufgezeigt, dass eine relative und absolute Quantifizierung des Nuklids ^{99m}Tc in unterschiedlichen Zylinderphantomen mit Hilfe eines hochauflösenden, mit einem Multipinhole-Kollimator ausgerüsteten SPECT möglich ist. Durch die Ausrüstung einer herkömmlicher Gamma-kamera (Siemens e-cam) mit Multipinhole-Kollimatoren sollen künftig quantifizierbare, hochauflösende, hochempfindliche SPECT-Bilder auch von Kleintieren ermöglicht werden. Erste Untersuchungen zum Thema in-vivo-Quantifizierung mit den Nukliden ^{99m}Tc und ^{111}In wurden auch in der hier vorliegenden Arbeit durchgeführt. Der Nachweis einer in-vivo-Quantifizierung würde einen signifikanten Fortschritt auf dem Gebiet nuklearmedizinischer Forschung mit sich bringen. Ein bedeutender Vorteil im Vergleich zu den bisher gebräuchlichen Quantifizierungsmethoden Autoradiographie oder Messung im Gammacounter bestünde in der kontinuierlichen Verfolgung von Stoffwechselvorgängen in nur einem Organismus. Aus diesem Grund könnte eine Opferung von Versuchstieren vermieden werden.

3. Material und Methodik

3.1. Versuchsquellennachweis

3.1.1. Chemikalien

Chemikalie	Bezugsquelle
NaCl	Sigma-Aldrich Co. Chemie GmbH, Deutschland
Gastrin	
Minigastrin	

3.1.2. Radiochemikalien

Radiochemikalie	Bezugsquelle
¹¹¹ -Indium	Tyco Healthcare Deutschland GmbH
^{99m} -Technetium	

3.1.3. Reagenzien und Verbrauchsmaterial

Reagenz/ Verbrauchsmaterial	Bezugsquelle
Eppendorf Gefäße	Greiner bio-one GmbH, Deutschland
Pipetten	
Spritzen	
Reagenzgläser	

3.1.4. Geräte

Gerät	Hersteller
e-cam Kamerasystem	Siemens Medical Solutions, Illinois, USA
Aktivimeter Curiementor E	PTW, Freiburg, Deutschland
Gammacounter: Packard Cobra II	Global Medical Instrumentation, Ramsay, Minnessota, USA
Magnetresonanztomograph Siemens Magnetom Expert	Siemens Medical Solutions, Erlangen, Deutschland
Mo/Tc- Generator	Tyco Healthcare Deutschland, GmbH
Waage	Kern & Sohn GmbH, Deutschland

3.1.5. Versuchstiere

Mausstamm	Bezugsquelle
ICR nu/nu	Universitätsklinikum Marburg

3.1.6. Anästhetika

Anästhetikum	Bezugsquelle
Ketanest®	Fa. Parke-Davis, Berlin, Deutschland
Xylazin	Rompun®, Bayer Leverkusen, Deutschland

3.1.7. Computer/Software

Hardware/Software	Bezugsquelle
ICON-Software auf Siemens ICON Siemens	Medical Solutions, Illinois, USA
Multi Modality auf Hermes Workstation Hermes	Medical Solutions, Stockholm, Schweden
Linux Rekonstruktionsprogramm Slice Freehand	Dr. Nils U. Schramm, Zentrallabor Elektronik, Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Deutschland
SPSS 13.0	SPSS Inc., USA

3.1.8. SPECT-Phantome

Phantom	Bezugsquelle
1-Kammer/Zylinderphantom	Dr. Nils U. Schramm, Zentrallabor
4-Kammerphantom	Elektronik, Forschungszentrum Jülich
4-Kammer-Tortenphantom	GmbH, Jülich, Deutschland
8-Kammer-Tortenphantom	
Jaszczak-Phantom	

3.2.1. Kamerasystem

3.2.1.1. E-cam

Die Datenaquisition erfolgte mit dem e-cam Kamerasystem der Firma Siemens Medical Solutions, Illinois, USA.

Der bei den jeweiligen Versuchen angegebene Rotationsradius dieses Systems besteht per definitionem in dem Abstand zwischen Kollimator und dem Versuchsobjekt. Ein voreingestellter Zoomfaktor ermöglicht die Ausschnittsvergrößerung des gewünschten Abbildungsraumes um das zentrale Untersuchungsobjekt.



Abb. 5 Siemens e-cam (34)

Tab. 2 Acquisition Parameters SPECT/ whole body SPECT (31, 34)

Matrix Size	Max # of view/frames	Motion	Stop conditions
Up to 128	255 vws/16 frames	Min. 1° Steps	time/view
	2 detectors		1st view by counts
	4 windows		
	(3 scalars)		

3.2.1.2. Kollimatoren

Die Versuchsreihe wurde ausschließlich als hochauflösendes Pinhole-SPECT durchgeführt. Eine herkömmliche Gammakamera wurde hierbei mit Pinhole-Kollimatoren ausgestattet, um eine höhere Sensitivität zu erzielen. Die aufgrund dessen verminderte Auflösung konnte mit der Einführung der Multipinhole-Kollimatoren entscheidend verbessert werden. Diese enthalten heute meist 7-12 Pinholes pro Kollimator. Die Pinholes sind auf spezifische Weise arrangiert, so dass erst die Überlagerung der Projektionen durch alle Pinholes ein Gesamtbild des Objektes auf dem Detektor ergibt.- Dieses aus den Einzelpinhole-Projektionen entstehende Gesamtbild wird „field of view“ (FOV) genannt, welches nunmehr den gesamten Abbildungsraum enthält. Ein

einzelnes Pinhole zeigt nur einen Ausschnitt des zu untersuchenden Objektes. Um dieses FOV zu erreichen, müssen die Achsen der Pinholes in axiale, sowie transaxiale Richtung gekippt werden. Projektionen durch unterschiedliche Pinholes überlappen sich gegenseitig auf dem Detektor, weshalb das Detektorfeld effizienter genutzt werden kann und somit eine Steigerung der Sensitivität erzielt wird. Das Multipinhole-SPECT bietet weiterhin die Möglichkeit zur Bildgebung eines nicht-sphärischen FOV, welches eine tomographische Ganzkörperdarstellung von Kleintieren ermöglicht.

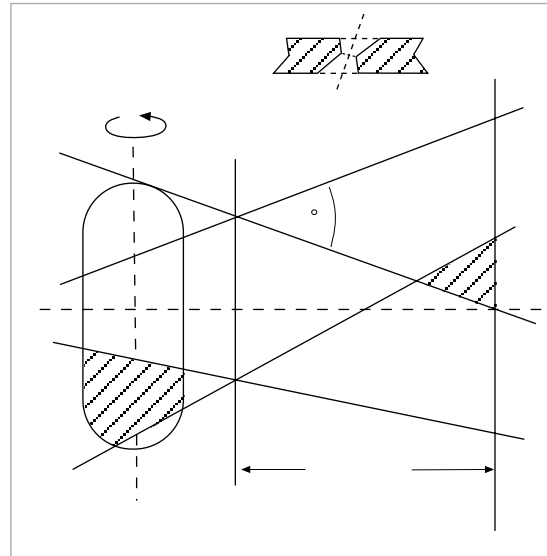


Abb. 6 Abbildungsgeometrie eines Multipinhole-Kollimators (32)

Beim Versuchsaufbau der unterschiedlichen Phantommessungen kamen verschiedene Pinhole-Kollimatoren zum Einsatz, welche in folgender Tabelle näher charakterisiert werden sollen.

Tab. 3 Charakteristika der einzelnen Aperturen (31)

	Apertur 1	Apertur 2	Apertur 8
Tomograph. FOV* ¹ = (mm ³)	40 x 90	40 x 40	40 x 90
Nr of Pinholes	1	7	7
Acceptance Angle	90	40	60
ROR* ² (mm)/Magnif.	50/3	50/3	50/3
Overlap fraction (%)	-	48	48
Sens. (cps/MBq)	101	568	334
Resolution	1,4	1,5	1,5
Pinhole diameter (mm)	1,5	1,5	1,5

*¹ = Field of View

*² = Radius of Rotation

Apertur 1

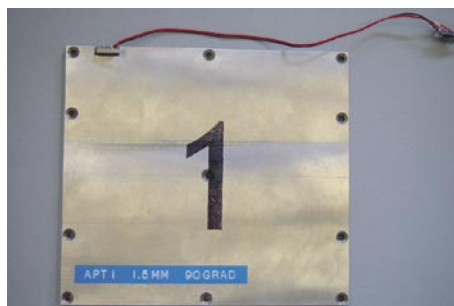


Abb. 7 Photographische Abbildung Apertur 1 (31)

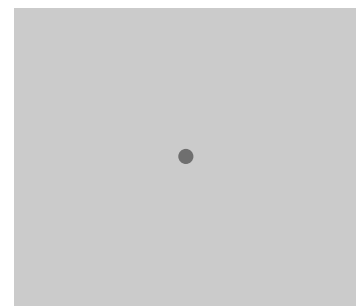


Abb. 8 Schematische Abbildung Apertur 1

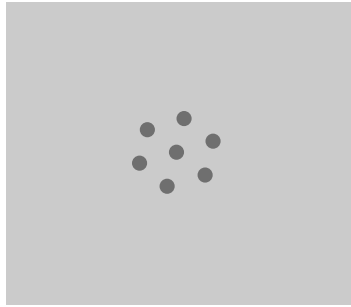
Apertur 2

Abb. 9 Schematische Abbildung
Apertur 2

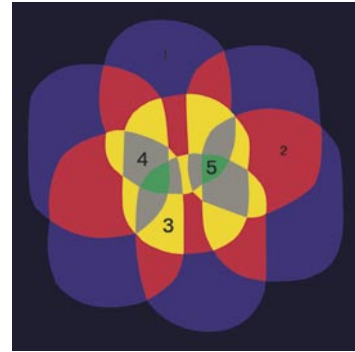


Abb. 10 Überlappungsschema
Apertur 2

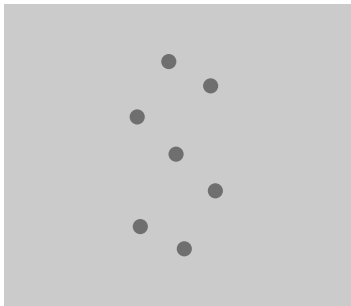
Apertur 8

Abb. 11 Schematische Abbildung
Apertur 8

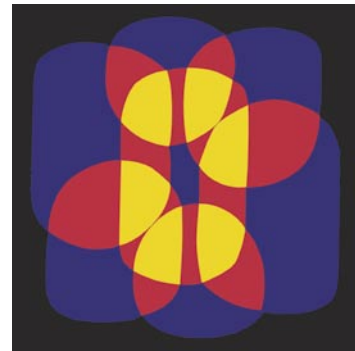


Abb. 12 Überlappungsschema
Apertur 8

3.2.2. In-vitro-Versuche

3.2.2.1 Phantome

Die Versuche wurden mit unterschiedlichen, in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Phantomen durchgeführt. Alle Phantome wurden aus Polymethylmethacrylat (Plexiglas) hergestellt. Anhand der folgenden Schemazeichnungen und Abbildungen soll eine Übersicht über die zur Anwendung gekommenen Phantome gegeben werden.

Vierkammerphantom:

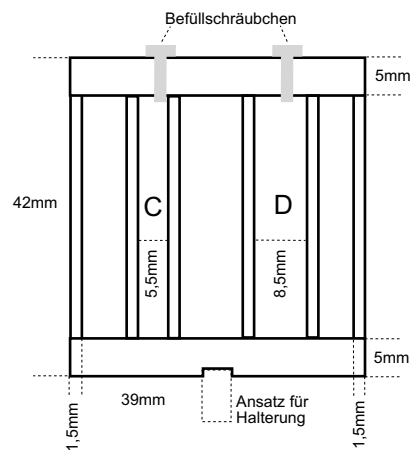


Abb. 13 Schemazeichnung Vierkammerphantom Vertikalschnitt



Abb. 14 Photographische Abbildung Vierkammerphantom, Seitenansicht

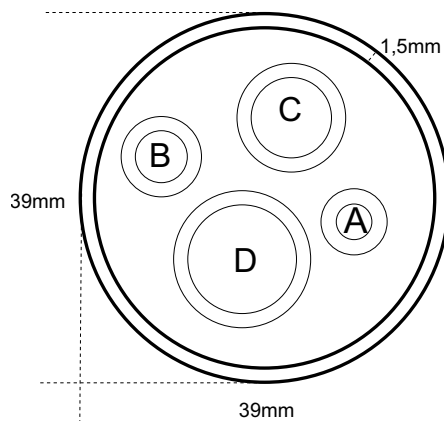


Abb. 15 Schemazeichnung Vierkammerphantom Horizontalschnitt

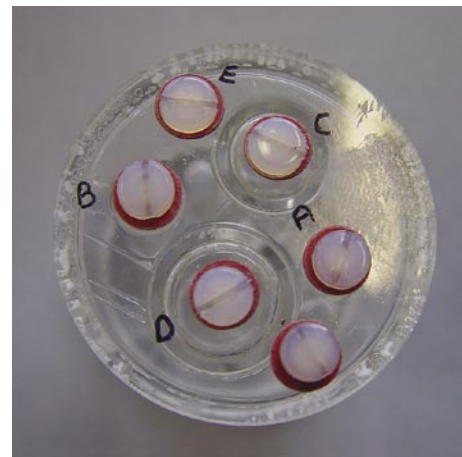


Abb. 16 Photographische Abbildung Vierkammerphantom, Aufsicht

Vierkammer-Tortenphantom:

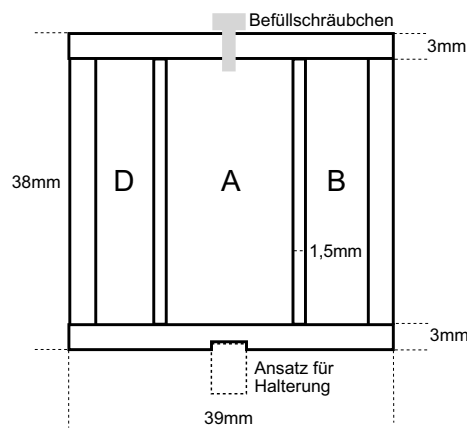


Abb. 17 Schemazeichnung Vierkammer-Tortenphantom, Vertikalschnitt



Abb. 18 Photographische Abbildung Vierkammer-Tortenphantom, Seitenansicht

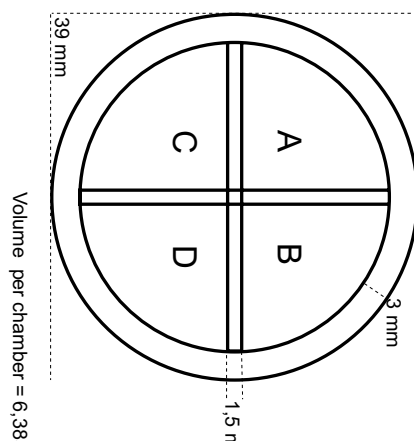


Abb. 19 Schemazeichnung Vierkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt

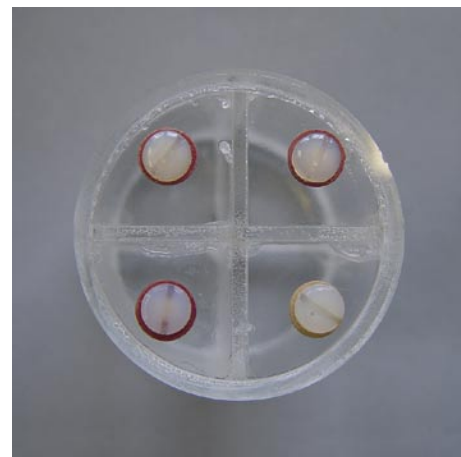


Abb. 20 Photographische Abbildung Vierkammer-Tortenphantom, Aufsicht

Achtkammer-Tortenphantom:

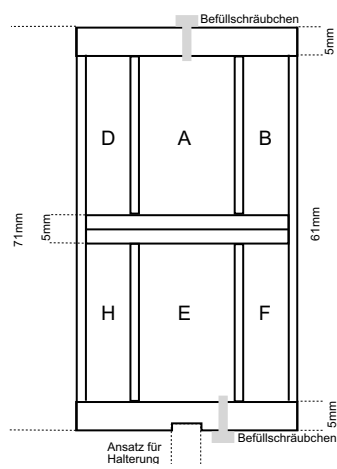


Abb. 21 Schemazeichnung Achtkammer-Tortenphantom, Vertikalschnitt



Abb. 22 Photographische Abbildung Achtkammer-Tortenphantom, Seitenansicht

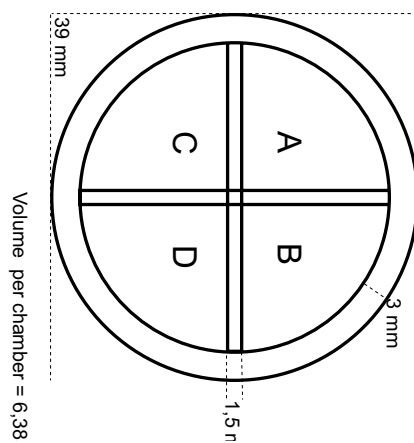


Abb. 23 Schemazeichnung Achtkammer-Tortenphantom, Horizontalschnitt

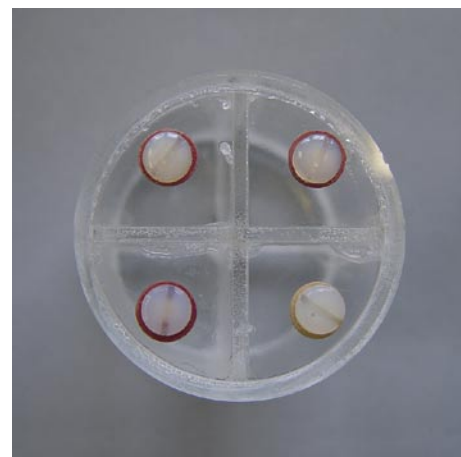


Abb. 24 Photographische Abbildung Achtkammer-Tortenphantom, Aufsicht

Leerzylinderphantom:

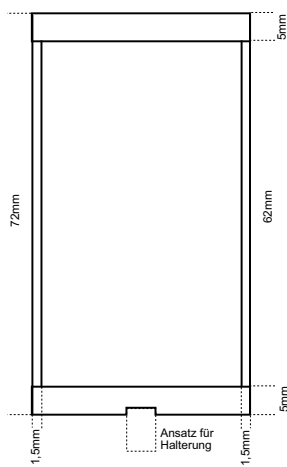


Abb. 25 Schemazeichnung Leerzylinderphantom, Vertikalschnitt



Abb. 26 Photographische Abbildung Leerzylinderphantom, Seitenansicht

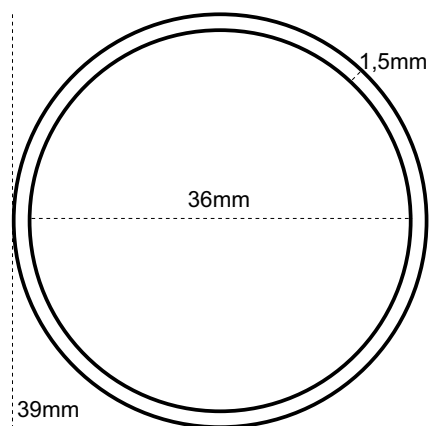


Abb. 27 Schemazeichnung Leerzylinderphantom, Horizontalschnitt

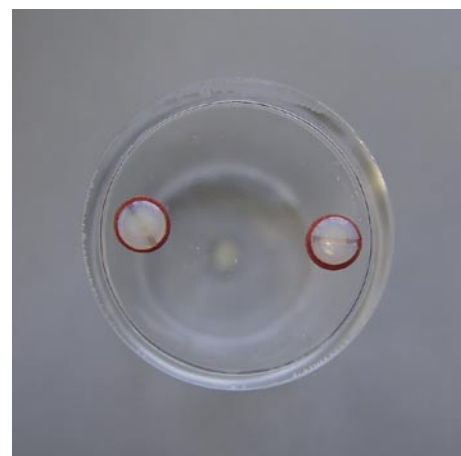


Abb. 28 Photographische Abbildung Leerzylinderphantom, Aufsicht

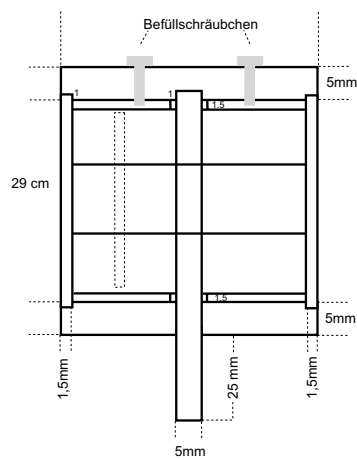
Jaszczak-Phantom:

Abb. 29 Schemazeichnung Jaszczak-Phantom, Vertikalschnitt



Abb. 30 Photographische Abbildung Jaszczak-Phantom, Seitenansicht

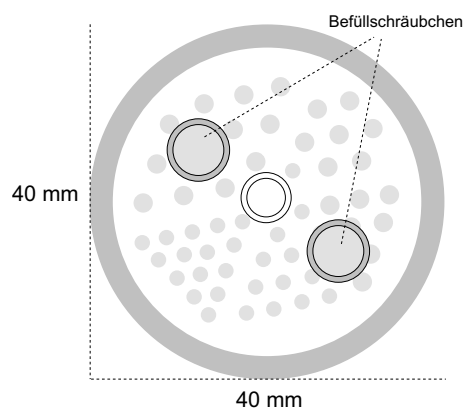


Abb. 31 Schemazeichnung Jaszczak-Phantom, Horizontalschnitt

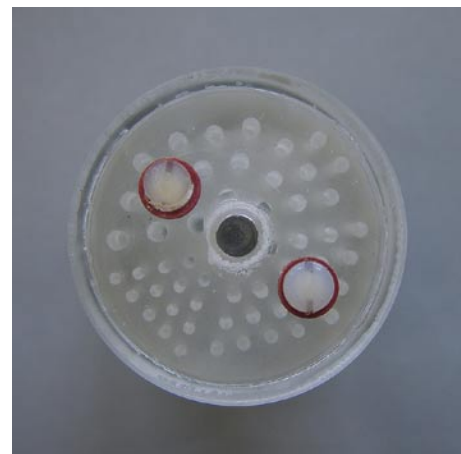


Abb. 32 Photographische Abbildung Jaszczak-Phantom, Aufsicht

3.2.2.2. Versuchsaufbauten der in-vitro-Versuche

In den unterschiedlichen Versuchen wurden sowohl relative als auch absolute Quantifizierungen der Konzentrationen vorgenommen. Im folgenden Abschnitt erfolgt eine detaillierte Versuchsbeschreibung der im Einzelnen vorgenommenen in-vitro-Versuche:

1. Es wurde das Vierkammerphantom angewendet. Die Kammern wurden mit folgenden Konzentrationen an ^{99m}Tc befüllt:

Tab. 4 Aktivitätskonzentrationen Versuch 1

Kammer	Konzentration kBq/ml (%)
1	925 (100)
2	925 (100)
3	925 (100)
4	925 (100)
5 (Hintergrund)	92,5 (10)

Die SPECT-Untersuchung wurde 13 Minuten nach Befüllung des Phantoms gestartet. Die e-cam war mit Apertur 2 ausgestattet, wobei der Rotationsradius auf 5 cm eingestellt wurde. Der Zoomfaktor betrug 1,78. Es erfolgte eine relative Quantifizierung der Konzentrationen.

2. Für diesen Versuch wurde das Jaszczak-Phantom eingesetzt. Dieses wurde ebenfalls mit ^{99m}Tc befüllt. Die Aktivität des Gesamtphantoms wurde im Aktivimeter mit 425,5 MBq gemessen, wobei das Phantom wiederum in sechs Bereiche unterschiedlicher Aktivitätskonzentrationen eingeteilt wurde. Eine Auswertung erfolgte für die Bereiche 1-3.

Die relativen Aktivitätskonzentrationen beliefen sich auf folgende Werte:

Tab. 5 Aktivitätskonzentrationen Versuch 2

Bereich	Relative Konzentration (%)
1	100
2	69,4
3	50

Die SPECT-Untersuchung wurde 75 Minuten nach Messung der Aktivitäten im Aktivimeter gestartet. Die e-cam wurde, bei einem festgelegten Rotationsradius von 5 cm, mit Apertur 1 ausgestattet. Der Zoomfaktor belief sich auf 1,78. Auch hier fand eine relative Quantifizierung der Messergebnisse statt.

3. Wir verwendeten das Vierkammer-Tortenphantom, welches mit ^{99m}Tc befüllt wurde. Die Konzentrationen der Kammern gliederten sich folgendermaßen auf:

Tab. 6 Aktivitätskonzentrationen Versuch 3

Kammer	Konzentration MBq (%)
1	33,32 (43,82)
2	22,21 (29,21)
3	13,86 (18,22)
4	6,65 (8,75)

Die Berechnung der absoluten Konzentrationen der Einzelkammern beinhaltet eine Zerfallskorrektur von 50 Minuten, sowie eine Subtraktion des Untergrundwertes von 7,4 MBq. Ebenso beinhalten diese Werte einen Abzug der Restaktivität in der Spritze, mit welcher das Technetium in das Phantom gefüllt wurde. Die Auswertung erfolgte anschließend auf zwei unterschiedliche Methoden. Bei der ersten Methode wurden die Regions of Interest (ROIs)*¹ in den homogenen, inneren Bereich der Kammern gelegt, wohingegen bei der zweiten Methode die ROIs die komplette Kammer inklusive des inhomogenen Randbezirkes umfassten. Es erfolgte hier eine absolute Konzentrationsquantifizierung. Die e-cam war bei diesem Versuch mit der Apertur 8 ausgestattet. Der Rotationsradius betrug wiederum 5 cm, der Zoomfaktor 1,78. Es wurde eine Einstellung von 500 kcts/view, bei einer Totzeit*² von 1% gewählt.

4. Es wurde das Achtkammer-Tortenphantom eingesetzt. Auch dieses Phantom wurde mit dem Nuklid ^{99m}Tc befüllt. Die Möglichkeit einer absoluten Quantifizierung auch geringerer Konzentrationen sollte hier aufgezeigt werden. Weiterhin sollte nachgewiesen werden, dass eine Differenzierung geringgradiger Konzentrationsunterschiede in den unterschiedlichen Kammern möglich ist, weshalb wir die Befüllung folgendermaßen vornahmen:

Tab. 7 Aktivitätskonzentrationen Versuch 4

Kammer	Konzentration MBq/ml (%)
1	1,94 (21,89)
2	1,69 (19,12)
3	1,34 (15,10)
4	1,25 (14,14)
5	1,10 (12,39)
6	0,81 (9,09)
7	0,50 (5,58)
8	0,24 (2,70)

Die oben genannten Konzentrationen enthalten eine Zerfallskorrektur, wie auch einen Abzug der Untergrundaktivität von 29,6 kBq und der Restaktivität in der Spritze, mit welcher das Nuklid in das Phantom appliziert wurde. Da das Volumen einer Kammer 6,385 ml betrug, erfolgte weiterhin eine Umrechnung der erhaltenen Werte auf einen ml, indem eine Division der Aktivität in der jeweiligen Kammer durch das Volumen durchgeführt wurde. Unter Verwendung der Apertur 8 erfolgte die Messung mit einem Rotationsradius von 5 cm und einem Zoomfaktor von 1,45. Es konnten Werte von 400 kcts/view erzielt werden.

*1 für die Auswertung/Statistik relevante Bildanteile

*2 Zeit, die ein Detektor benötigt, ein Quant unverfälscht in einen elektrischen Impuls umzuwandeln und während dieser der Detektor keine weiteren Quanten nachweisen kann.

5. Auch hier wurde das Achtkammer-Tortenphantom eingesetzt. Ziel dieses Versuches war eine absolute Quantifizierung selbst äußerst geringer Konzentrationen. Mit jeweils verlängerter Messdauer wurden drei SPECT-Messungen dieses Phantoms gestartet, wobei die erste Messung mit 30 kcts/view, die zweite Messung mit 60 kcts/view und die dritte Messung mit 600 kcts/view durchgeführt wurde. Die Befüllung des Phantoms erfolgte mit folgenden Konzentrationen an ^{99m}Tc , wobei die Konzentrationen zu Beginn der SPECT-Untersuchung abzüglich der Zerfallskorrektur sowie Untergrund und Spritzenrestwert differierten:

Tab. 8 Aktivitätskonzentrationen Versuch 5

Messung 1 kBq/ml (%)	Messung 2 kBq/ml (%)	Messung 3 kBq/ml (%)
Kammer 1: 3878,57 (49,01)	3803,16 (48,97)	3639,85 (49,01)
Kammer 2: 1986,90 (25,11)	1950,49 (25,12)	1864,61 (25,11)
Kammer 3: 1016,67 (12,85)	998,05 (12,85)	954,09 (12,85)
Kammer 4: 523,22 (6,61)	513,65 (6,61)	491,02 (6,61)
Kammer 5: 268,35 (3,39)	265,88 (3,42)	251,83 (3,39)
Kammer 6: 136,05 (1,72)	133,40 (1,72)	127,65 (1,72)
Kammer 7: 68,65 (0,87)	67,32 (0,87)	64,43 (0,87)
Kammer 8: 34,73 (0,44)	34,01 (0,44)	32,59 (0,44)

Die Kamera war wiederum mit der Apertur 8 ausgestattet. Der Rotationsradius betrug auch hier 5 cm bei einem Zoomfaktor von 1,78. Die Totzeit der Messungen betrug 1 %.

6. Neben diesen Versuchen erfolgte eine zweimalige Ermittlung des Skalierungs- bzw. Quantifizierungsfaktors für ^{99m}Tc . Dieser war essentiell zur Berechnung der Konzentrationen aus dem ermittelten *mean-Pixelcount*. Zu diesem Zweck wurde ein Leerzylinder mit einer Aktivität von 3883,52 kBq befüllt. Dieser Wert enthält sowohl eine Zerfallskorrektur von 10 Minuten bis zum Beginn der SPECT-Untersuchung, sowie einen Abzug der Untergrundaktivität von 55,5 MBq. Die e-cam wurde mit Apertur 8 ausgestattet. Der Rotationsradius betrug, bei einem Zoomfaktor von 1,78, 5 cm. Die Aufnahme erzielte 500 kcts/view.

3.2.2. In-vivo-Versuchsreihe

3.2.2.1. Tierspezies und Tierhaltung

Die Tierversuche wurden an gezüchteten Mäusen weiblichen Geschlechtes durchgeführt. Diese befanden sich in einem Alter von ca. 6-9 Wochen. Ihr Gewicht betrug im Mittel ca. 25 Gramm (22-28 Gramm). Bezogen wurden diese Tiere aus eigener Haltung. Die Tiere der ersten Versuchsreihe waren ICR-nu/nu-Mäuse, welchen 10-6 AR4-2J-Tumorzellen appliziert wurden. Das nachfolgende Tumorwachstum erfolgte über einen Zeitraum von ca. 2 Wochen, auf eine Größe von ca. 2 x 2 cm.

Das in der zweiten Versuchsreihe eingesetzte Tier besaß denselben Genotyp, wie die Tiere der ersten Versuchsreihe. Diesem Tier wurden AR4-2J-Tumorzellen injiziert, woraufhin sich wiederum ein Tumorwachstum über ca. 3 Wochen einstellte.

Alle Tiere wurden im Tierstall des nuklearmedizinischen Labors der Philipps-Universität Marburg in spezieller Tierhaltung für Nacktmäuse gehalten. Bei einer Temperatur von ca. 26 Grad Celsius erfolgte die Unterbringung auf Einstreu. Während dieser Zeit erhielten sie Pressfutter und Wasser ad libitum.

3.2.2.2. Versuchsaufbauten des Tiermodells

Im Hinblick auf eine künftige Anwendung des hochauflösenden SPECT-Tomographen im klinischen Alltag, sollte auch die Möglichkeit der quantitativen Analyse der Daten im in-vivo Tiermodell aufgezeigt werden. Zwei Versuchsreihen wurden zur Bearbeitung dieser Fragestellung durchgeführt.

1. Die erste Messeinheit umfasste zwei Versuchstiere, welchen eine Menge von jeweils 18,5 MBq ^{99m}Tc -Gastrin in die Schwanzvene injiziert wurde. Als Standards wurden drei mal 5 μl des Technetium-Gastrins separat abgefüllt. Nach der Injektion des Tracers erhielten die Tiere eine intraperitoneale Narkose bestehend aus einer Kombination der Anästhetika Ketanest® (100 mg/kg KG) und Xylazin (15 mg/kg KG). Sofort im Anschluss wurde eine magnetresonanztomographische Aufnahme ohne Kontrastmittelapplikation durchgeführt.

Für die Messung beider Tiere wurde die e-cam mit der Apertur 8 versehen. Im Anschluss an die SPECT Untersuchung erfolgte nach vorgegebenem Schema die Sektion des Tieres und eine Separierung der folgenden Organe, nach genauer Gewichtsdatierung: Leber, Herz, Lunge, Milz, Pankreas, Magen, Nieren, Darm, Muskel, Knochen, Tumor. Eine Messung der Aktivität dieser Organe sowie der Standards erfolgte nach 2 Tagen im Gammacounter. Folgende Einstellungen der e-cam wurden vermerkt: Rotationsradius 14,3 cm, Zoomfaktor 1,78.

2. Ein weiteres Versuchstier wurde in einer zweiten Messeinheit untersucht. Der Ablauf der Untersuchung erfolgte analog der ersten in-vivo Versuchsreihe. Im Gegensatz dazu wurden dem Tier 37 MBq ^{111}In -Minigastrin injiziert. Eine Anreicherung des Tracers wurde vor allem in der Niere, sowie im Tumor erwartet, weshalb sich die Gammacounteranalyse auf eben diese Organe beschränkte. Eine magnetresonanztomographische Untersuchung wurde nicht durchgeführt, da die Organgrenzen im rekonstruierten SPECT-Bild erwartungsgemäß gut abgrenzbar waren. Ein Uptake in die anderen Organe des Tieres blieb weitestgehend aus. Die SPECT-Aufnahme wurde nach einer Anreicherungszeit von 52 Minuten gestartet. Es kam Apertur 8, bei einem Rotationsradius von 14,4 cm, zur Anwendung. Der Zoomfaktor betrug 1,78.

3. Zur quantitativen Analyse der Daten benötigten die in-vivo-Versuche eine Ermittlung des Quantifizierungsfaktors für das Nuklid ^{111}In . Analog der Bestimmung des ^{99m}Tc -Skalierungsfaktors wurde auch hier ein Leierzylinderphantom befüllt. Die Konzentrationsaktivität abzüglich des Hintergrundes wie auch der Zerfallskorrektur von 10 Minuten betrug 54,76 MBq/ml ^{111}In . Es wurde Apertur 8 eingesetzt. Der Rotationsradius wurde auf 14,4 cm eingestellt. Der Zoomfaktor betrug 1,78. Die Messung wurde mit 0,5 kcts/sec durchgeführt.

3.2.2.3. Genehmigung der Tierversuche

Die Tierversuche wurden gemäß Tierschutzgesetz von der Regierung Hessen als zuständiger Behörde unter dem Aktenzeichen VI 25.3 – 19c 20-15(1) MR 20/24 – Nr 26/2002 RP Gießen genehmigt.

3.2.3. Versuchsprotokoll

Anlage 1 - Seite 92

3.3. Auswertung

3.3.1. Software, Rekonstruktion und ROIs

Die Rekonstruktion der SPECT-Bilder erfolgte durch einen iterativen Rekonstruktionsalgorithmus.

In-vitro-Versuche: Bei einem Teil der Versuche erfolgte eine Aufsummation der Einzelschichten des Phantombildes durch das Softwareprogramm *Slice* im Linux Betriebssystem. Anschließend erfolgte ein Datenimport auf einen Hermes-Rechner mit Sun Solaris Betriebssystem.

Mit Hilfe des Softwaretools *Multi Modality* auf dem Hermesrechner bzw. *freehand* auf dem Linuxrechner erfolgte im Anschluss eine Auswertung der Daten. Dieses Programm ermöglichte es, so genannte Regions of Interest (ROIs) über das auszuwertende Areal zu legen und eine Statistik zu erstellen. Folgende Parameter wurden in der Statistik erfasst: *Cells*, *Total*, *Mean*, *Minimum*, *Maximum*, *Standard Deviation*. Wenn durch den Vorgang der Aufsummation nur noch eine gemittelte Schicht existierte, konnte der Vorgang der Auswertung auf das Anlegen nur einer Region of Interest über diese Schicht reduziert werden. Zu Beginn kamen hierbei zwei Methoden zur Anwendung:

- ROI über dem gesamten auszuwertenden Areal inklusive des inhomogenen Randbezirk
- ROI nur im inneren homogen anreichernden Bereich des gewünschten Areals

Allerdings wurde die Auswertung im Verlauf auf die zweite Methode reduziert.

Zur Ermittlung relativer Konzentrationen (Versuch 1 und 2) wurden die mittleren Pixelcounts/Kammer bzw. Bereich des jeweiligen Phantoms (*mean*) bestimmt. Anschließend wurde der relative Unterschied dieser durch das Tool ermittelten Counts errechnet.

Zur Berechnung absoluter Konzentrationen erfolgte ebenfalls eine Ermittlung des *mean-Pixelcounts* der jeweiligen Kammern des Phantoms mit Hilfe der Software *Multi Modality*. Weiterhin erfolgte eine Multiplikation dieses Wertes mit dem ermittelten Skalierungsfaktor für das entsprechende Nuklid.

In-vivo-Versuche: Die Auswertung erfolgte analog der in-vitro-Versuche. Allerdings entfiel die Möglichkeit der Aufsummation, da keine Deckungsgleichheit der Einzelschichten erzielt werden konnte. Somit wurde jeweils eine ROI/Schicht über das gewünschte Areal gelegt. Der Mittelwert der Schichten wurde anschließend mathematisch bestimmt. Die Berechnung der absoluten Aktivitätskonzentrationen erfolgte analog der in-vitro-Versuche.

3.3.2. Berechnungen und mathematische Formeln

Zu Beginn der Auswertung erfolgte eine Berechnung der tatsächlichen Aktivitätskonzentration im Phantom zur Startzeit der SPECT-Messung. Da die Applikation der Aktivität in das Phantom mit Hilfe einer Spritze erfolgte, wurde eine Subtraktion des verbliebenen Restwertes in dieser Spritze durchgeführt. Ebenfalls subtrahiert wurde die im leeren Aktivimeter gemessene Untergrundaktivität. Weiterhin erfolgte eine Zerfallskorrektur für das entsprechende Nuklid ^{99m}Tc für die Zeitspanne von der Befüllung des Phantoms bis zum Beginn der SPECT-Untersuchung. Die Berechnung der Fehlerbalken erfolgte mit Hilfe des Softwareprogrammes SPSS, Version 13.0. Wohingegen bei der graphischen Darstellung der Ergebnisse nur der Betrag der Soll-

Ist-Abweichung dargestellt wurde, wurde bei der Erstellung der Fehlerbalken auch eine Abweichung in den negativen Bereich berücksichtigt.

Die Berechnung der Skalierungsfaktoren zur absoluten Quantifizierung erfolgte nach folgender Formel:

Aktivitätskonzentration zum Startzeit der Messung/*Mean*

Die absolute Quantifizierung der Konzentrationen wurde durch folgendes Vorgehen ermittelt:

Mean x Skalierungsfaktor

Berechnung des Mittelwertes:

\sum der Aktivitätskonzentrationen der Einzelschichten/ \sum der Anzahl der Einzelschichten

Berechnung der Standardabweichung (S.D.):

$$\text{S.D.} = \sqrt{\sum_{m=1}^m \sum_{j=1}^n (Y_{is} - M)^2 / (N_y - 1)}$$

Dabei gilt:

s = Nummer der Datenreihe

i = Datenpunktnummer in Datenreihe s

m = Anzahl der Datenreihen des Punktes y im Diagramm

n = Anzahl der Punkte je Datenreihe

Y_{is} = Datenwert der Datenreihe s und des i-ten Punktes

N_y = Gesamtzahl der Datenwerte aller Datenreihen

M = Arithmetisches Mittel

Umrechnung der Aktivitäten:

Es erfolgte eine Umrechnung der Aktivitäten von der veralteten Einheit Curie (Ci) in Becquerel (Bq) anhand folgenden Verhältnisses:

1 Ci \cong 37 GBq

4. Ergebnisse

4.1. Skalierungsfaktoren

4.1.1. 99m-Tc

Tab. 9 Tabellarische Darstellung des Ergebnisses

Aktivität zum Startzeitpunkt der SPECT- Messung (MBq/ml)	<i>mean-Pixelcount</i>	Standardabweichung
3,88	99,54	4,71

4.1.1.1. Berechnung des Skalierungsfaktors

Zur Berechnung des Skalierungsfaktors erfolgte die Aufsummierung der Schichten des Zylinderphantoms mit Hilfe des Softwaretools *slice* im Linuxbetriebssystem. Über das auf diese Weise entstandene „Floatbild“ wurde eine randständige Region of Interest gelegt. Die Auswertung dieser ROI ergab oben genannten *mean-Pixelcount*. Um den gewünschten Skalierungsfaktor für das Nuklid 99m-Tc zu erhalten musste weiterhin eine Division der Aktivitätskonzentration zu Beginn der Messung durch den *mean-Pixelcount* erfolgen. Die im Aktivimeter gemessene ursprünglich in das Phantom eingefüllte Konzentration wurde zuvor durch Berechnung des Zerfalls korrigiert. In diesem Fall betrug die Zeit von der Messung der Aktivitätskonzentration im Aktivimeter bis zum Start der SPECT-Untersuchung 10 Minuten. Die Einheit des berechneten Skalierungsfaktors betrug MBq/ml.

4.1.2. 111-In

Tab. 10 Tabellarische Darstellung des Ergebnisses

Aktivität zum Startzeitpunkt der SPECT-Messung (kBq/ml)	<i>mean-Pixelcount</i>	Standardabweichung
54,76	12 180	2 597

4.1.2.1. Berechnung des Skalierungsfaktors

Ausgehend von einer im Aktivimeter gemessenen Aktivitätskonzentration von 1798,2 kBq für das gesamte Zylinderphantom wurde eine Zerfallskorrektur für 111-In von einer Stunde vorgenommen. Weiterhin erfolgte eine Division des erhaltenen Wertes durch das Volumen des Phantoms von 32,5 ml. Analog der Ermittlung des Skalierungsfaktors für 99m-Tc erfolgte auch hier eine Aufsummation der Einzelschichten des Zylinderphantoms durch das Programm *slice* auf dem Linuxrechner. Diese Daten wurden anschließend auf den Hermesrechner importiert. Durch eine Region of Interest über der Floatschicht im *Multi Modality Tool* erhielten wir den *mean-Pixelcount*. Schließlich wurde zur Berechnung des Skalierungsfaktors für 111-In eine Division dieses Mittelwertes durch die ermittelte Aktivitätskonzentration zum Startzeitpunkt der SPECT-Messung durchgeführt. Der erhaltene Skalierungsfaktor erhielt somit die Einheit kBq/ml.

4.2. In-vitro-Versuche

4.2.1. Versuch 1

4.2.1.1. Versuchsbeschreibung

Bei diesem Versuch sollte zu Beginn der Versuchsreihe eine relative Quantifizierung der Aktivitätskonzentrationen erzielt werden. Die durch die SPECT-Untersuchung erhaltenen und anschließend rekonstruierten Daten wurden auf den Hermesrechner importiert. Die ROI-Anlage erfolgte in jeder Einzelschicht des Phantoms. Anschließend wurde die Berechnung des Mittelwertes aus den durch das Hermestool *Multi Modality* ermittelten Werten *mean/Pixelcounts* der Kammern A-D durchgeführt. Dieser Wert wurde als 100 % angenommen. Anschließend erfolgte mittels Dreisatz die Berechnung des relativen Konzentrationswertes für die Hintergrundkammer E.

Durch Vergleich der durch die SPECT-Aufnahme ermittelten Konzentrationen mit den im Aktivimeter gemessenen Konzentrationswerten gelangten wir zu dem Ergebnis einer 0,9 %igen Abweichung.

4.2.1.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

Tab. 11

Kammer	Sollwert (Aktivimeter): absolute (MBq)/relative Konzentration (%)	Istwert: <i>mean- Pixelcount</i>	Istwert: relative Konzentration	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abweichung
1	925/100	1 550 258,70	} 100 %	—	148 504,57
2	925/100	1 811 896,61		—	4 568,67
3	925/100	1 636 566,55		—	3 120,98
4	925/100	1 718 648,11		—	2 054,40
5	92,5/10	183 167,14	10,9 %	0,9 %	395,47

4.2.1.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung des Phantoms

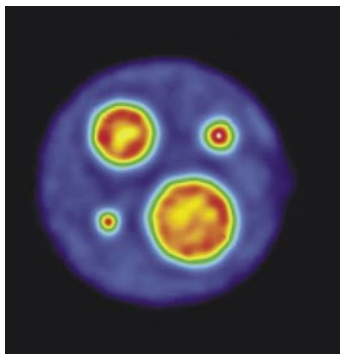


Abb. 33 Vierkammerphantom
Horizontalschnitt

4.2.1.4. Graphische Darstellung des Ergebnisses und der Soll-, Istwert-Abweichung

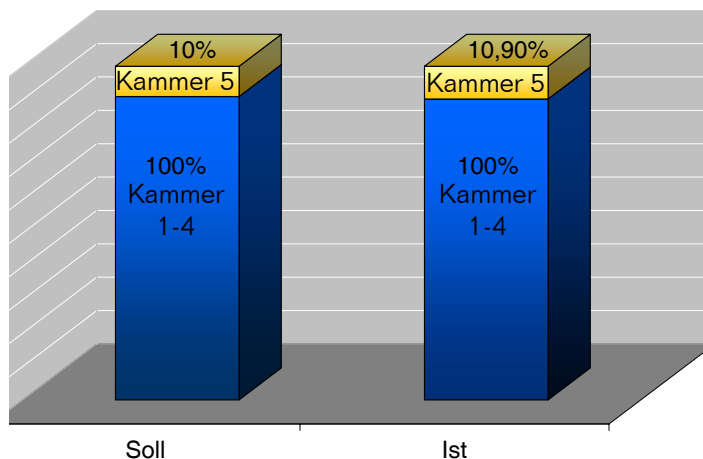


Abb. 34

4.2.2. Versuch 2

4.2.2.1. Versuchsbeschreibung

Ziel dieses Versuches war die Frage nach der Signifikanz des Partialvolumeneffektes. Danach besteht folgender Zusammenhang:

$$\text{Relativer Fehler} = 1/\sqrt{\omega}$$

Das Phantom wurde in sechs Teilbereiche unterschiedlich großer Einzelvolumina der Bohrungen unterteilt. Nur drei dieser Teilbereiche allerdings konnten ausgewertet werden. Die Einzelvolumina des vierten bis sechsten Teilbereiches waren auf der SPECT-Aufnahme nicht mehr präzise abgrenzbar, weshalb keine Möglichkeit bestand, die Anlage von Regions of Interest über diesen Einzelbohrungen vorzunehmen.

Auf eine Aufsummation der Einzelschichten musste aufgrund der leichten Schräglage des Phantoms unter der e-cam verzichtet werden. Deshalb wurde nach Datenimport vom Rechner mit Linusbetriebssystem auf den Hermesrechner die Anlage von ROIs in jeder Einzelschicht des Phantoms vorgenommen. Eine ROI umfasste in diesem Fall drei gut abgrenzbare Einzelbohrungen desselben Volumens, welche in demselben Bereich lagen.

Es wurde eine relative Quantifizierung des Phantoms vorgenommen, wobei der Bereich 1=100 % gesetzt wurde. Die mittels Dreisatz berechnete Soll-, Istwert-Abweichung belief sich für den Bereich 1 auf 13,2 % für den Bereich 2 auf 16,8 %.

4.2.2.2 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

Tab. 12:

Bereich	Sollwert (Aktivimeter) relativ (%)	Istwert <i>mean-Pixelcounts</i>	Istwert relativ (%)	Soll-Ist Ab- weichung (%)
1	100	8 351 120	100	—
2	69,4	6 158 755	82,6	13,2
3	50	5 236 937	66,8	16,8

4.2.2.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung des Phantoms

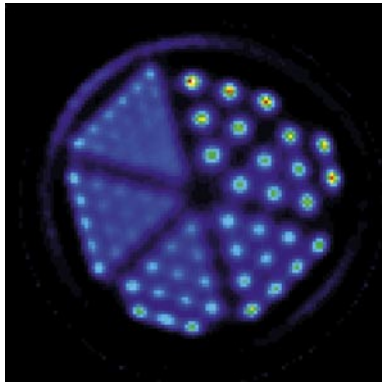


Abb. 35 Jaszczak-Phantom,
Horizontalschnitt

4.2.2.4. Graphische Darstellung Soll-, Istwert-Abweichung

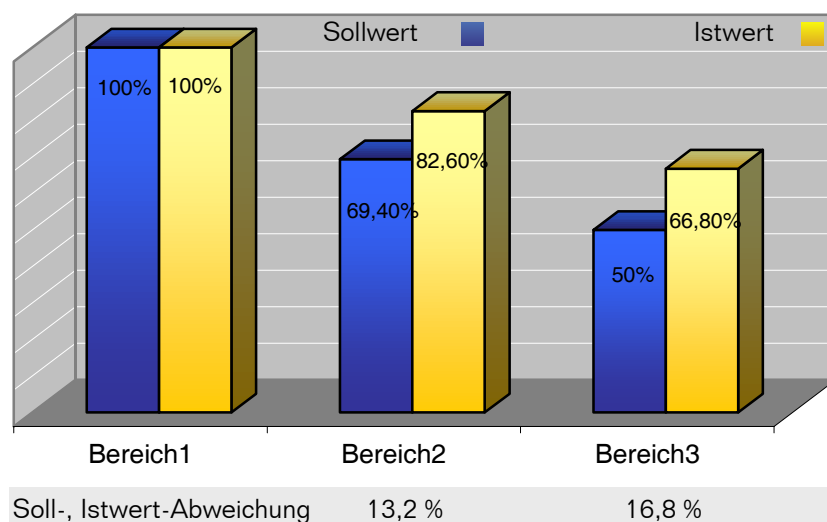


Abb. 36

4.2.3. Versuch 3

4.2.3.1. Versuchsbeschreibung

Eine Aufsummation der Einzelschichten wurde durch das Programm *slice* im Linuxbetriebssystem vorgenommen. Die Anlage der ROIs erfolgte hier ebenfalls auf dem Linuxrechner durch die Software *freehand*.

Die visuelle Betrachtung der SPECT-Aufnahmen stellte eine inhomogene Verteilung der Aktivität innerhalb der einzelnen Kammern dar. Vor allem an den Rändern der Kammern präsentierte sich eine scheinbar höhere Aktivitätsdichte als im relativ homogen strukturierten inneren Bereich der Kammern. Die absolute Quantifizierung wurde deshalb auf zwei unterschiedliche Arten durchgeführt. Ziel war es aufzuzeigen, dass durch eine Anlage der ROIs unter Einbezug dieses inhomogenen Randbezirkes kein größerer Fehlerquotient resultierte als bei der Anlage der ROIs exklusive dieses Randbereiches. Die Aktivitätskonzentrationen nach Anlage der ROIs im homogenen Inneren zeigten eine mittlere Soll-, Istwert-Abweichung von 7,03 (mittlere Standardabweichung 3,48). Nach Anlage randständiger ROIs betrug die mittlere Soll-, Istwert-Abweichung 6,37 (mittlere Standardabweichung 7,45). Die absoluten Aktivitätskonzentrationen wurden folgendermaßen berechnet: Es erfolgte eine Multiplikation des *mean-Pixelcounts* mit dem Skalierungsfaktor für das Nuklid ^{99m}Tc . Das Ergebnis war die absolute Aktivität der entsprechenden Kammer in MBq/ml. Die im Aktivimeter gemessene absolute Aktivitätskonzentration bezog sich allerdings auf die gesamte Kammer, welche ein Volumen von 7,5 ml umfasste. Deshalb erfolgte weiterhin eine Multiplikation des erhaltenen Wertes mit dem Volumen einer Kammer. Durch diesen Vorgang erhielten wir die gewünschte Einheit MBq.

4.2.3.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

A: ROIs gelegen im inneren homogenen Bereich der Kammern:

Tab. 13

Kammer	Sollwert (Aktivimeter) absolut (MBq)/ relativ (%)	Istwert <i>mean- Pixelcount</i>	Istwert absolut (MBq)/relativ (%)	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abwei- chung
1	33,32/100	122,19	34,79/100	4,21	5,31
2	22,21/66,6	84,77	24,13/69,4	8,01	4,80
3	13,86/41,5	52,05	14,82/42,5	6,61	2,35
4	6,65/19,9	25,64	7,30/20,9	9,27	1,47

B: ROIs gelegen am äußeren Rand der Kammern

Tab. 14

Kammer	Sollwert (Aktivimeter) absolut (MBq)/ relativ (%)	Istwert <i>mean- Pixelcount</i>	Istwert absolut (MBq)/ relativ (%)	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abweichung
1	33,32/100	126,62	34,99/100	4,82	11,54
2	22,21/66,6	87,96	24,30/69,4	8,65	9,33
3	13,86/41,5	53,05	14,66/41,9	5,6	5,59
4	6,65/19,9	25,61	7,08/20,2	6,38	3,35

4.2.3.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung des Phantoms

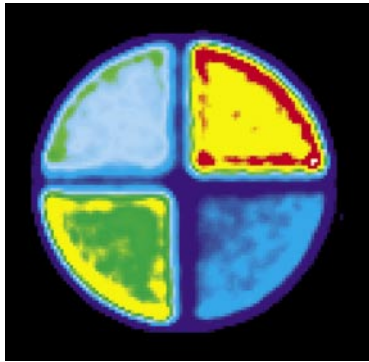


Abb. 37 Vierkammer-Tortenphantom
Horizontalschnitt

4.2.3.4. Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung

A: ROIs gelegen im inneren homogenen Bereich der Kammern

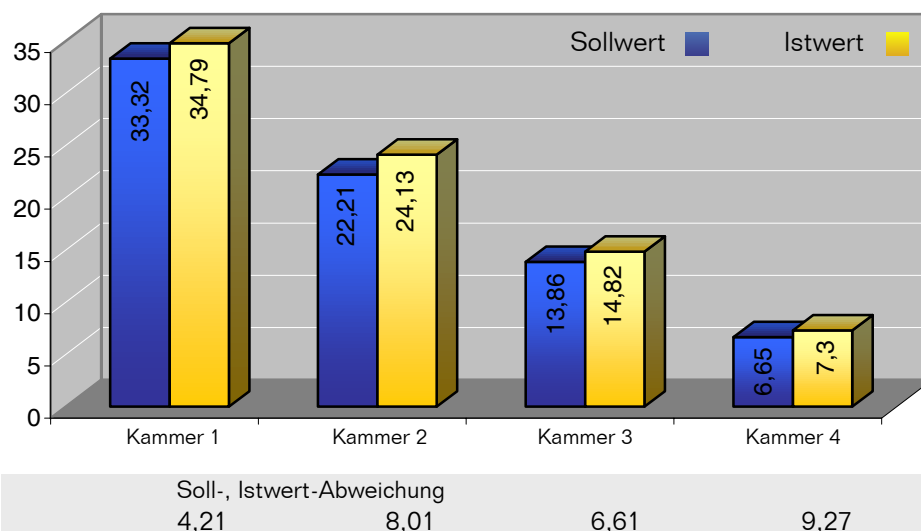


Abb. 38

B: ROIs gelegen am äußeren Rand der Kammern

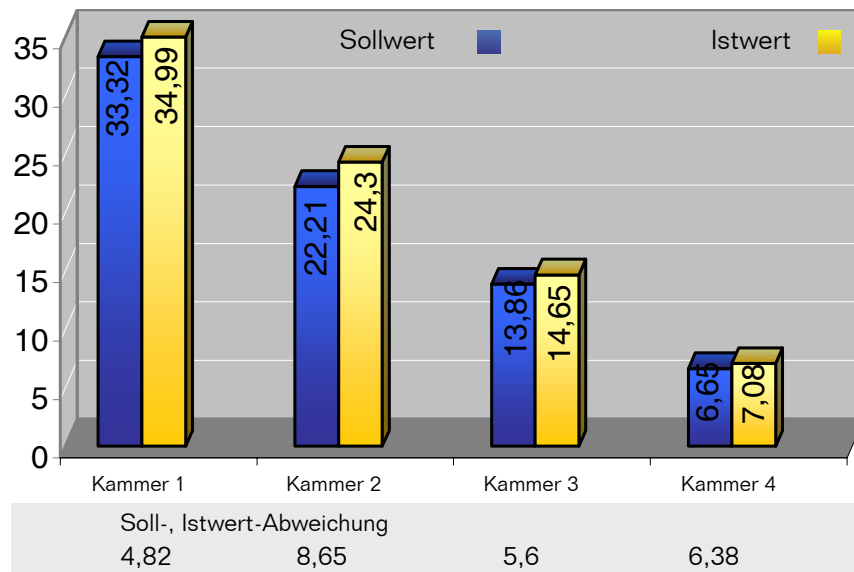


Abb. 39

4.2.4. Versuch 4

4.2.4.1 Versuchsbeschreibung

Das verwendete Achtkammer-Tortenphantom diente zum Nachweis der Möglichkeit einer absoluten Quantifizierung auch relativ geringer Aktivitätskonzentrationen von ^{99m}Tc . Weiterhin sollte der Nachweis erbracht werden, dass auch eine Differenzierung kleiner Aktivitätsabstufungen in den unterschiedlichen Kammern möglich ist. Die Befüllung des Phantoms erfolgte deshalb mit relativ geringen Konzentrationen beginnend mit ca. 1850 kBq/ml, bis hin zu einem Minimalwert von ca. 222 kBq/ml. Mit Hilfe des *Slice Tools* erfolgte eine Aufsummation der transversalen Schichten des Phantoms. Im Folgenden ergab die Auswertung nach Anlage randständiger ROIs im Programm *freehand* den *mean-Pixelcount*. Dieser Wert wiederum wurde mit dem Skalierungsfaktor für ^{99m}Tc multipliziert. Wir erhielten somit das gewünschte Ergebnis in MBq/ml. Die durch Dreisatz berechnete Abweichung zwischen Istwert und Sollwert belief sich auf maximal 8,59 %.

4.2.4.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

Tab. 15

Kammer	Sollwert (Aktivimeter) Absolut (MBq/ml)	Istwert <i>mean- Pixelcount</i>	Istwert absolut (MBq/ml)	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abwe- chung
1	1,94	54,81	1,89	(-) 2,63	8,21
2	1,69	45,68	1,58	(-) 8,18	5,44
3	1,34	38,75	1,34	0,52	4,65
4	1,25	36,80	1,27	3,95	3,25
5	1,10	32,18	1,11	3,48	4,53
6	0,81	23,02	0,80	(-) 3,49	3,18
7	0,49	15,24	0,53	8,59	1,20
8	0,24	6,50	0,23	(-) 7,09	1,36

4.2.4.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms

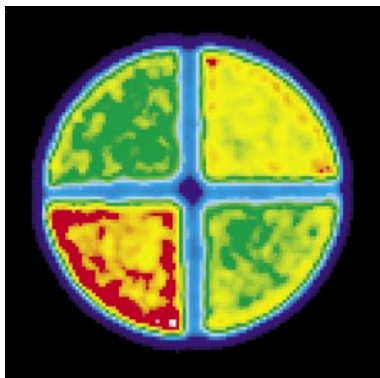


Abb. 40 Achtkammer Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit höheren Aktivitätskonzentrationen

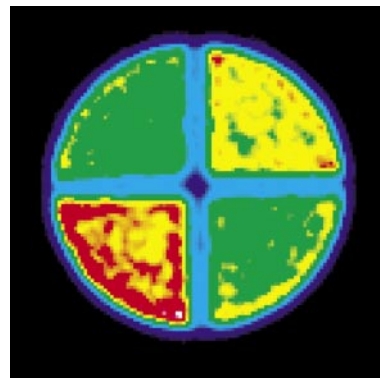


Abb. 41 Achtkammer Tortenphantom, Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigeren Aktivitätskonzentrationen

4.2.4.4. Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung

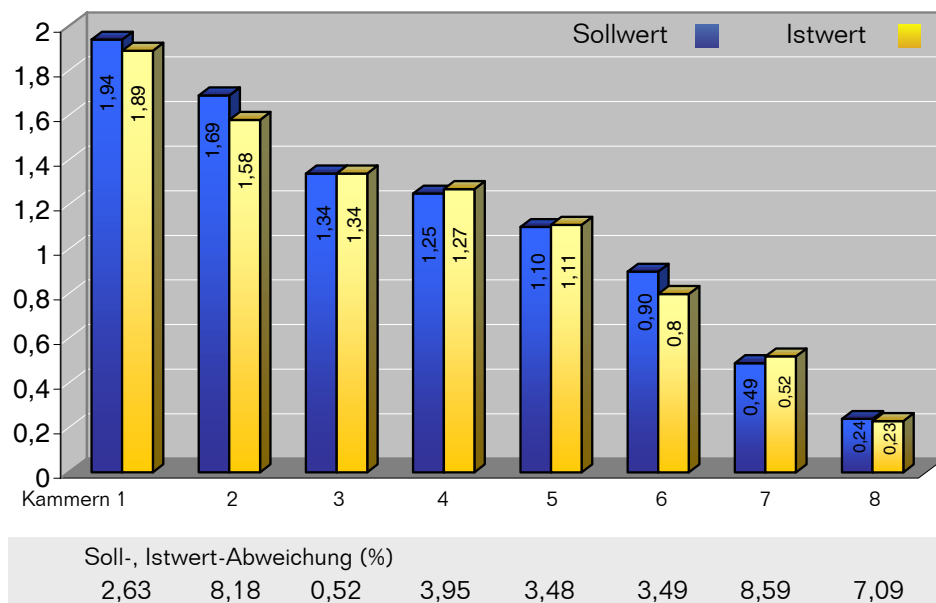


Abb. 42

4.2.5. Versuch 5

4.2.5.1. Versuchsbeschreibung

Die abermalige Messung des Achtkammer-Tortenphantoms sollte den Nachweis erbringen, dass die Möglichkeit der absoluten Quantifizierung selbst geringster Aktivitätskonzentrationen des Nuklids ^{99m}Tc besteht. Die Befüllung des Phantoms erfolgte mit einer Maximalkonzentration von ca. 3885 kBq/ml. Von dieser Konzentration aus wurde eine Verdünnungsreihe um jeweils ca. 50 % erstellt. Auf diese Weise wurde eine Minimalkonzentration von nur ca. 37 kBq/ml erreicht. Die konkrete Fragestellung richtete sich nach der minimalen Zeit bzw. counts/view, welche nötig ist, um eine korrekte absolute Quantifizierung der einzelnen Konzentrationen zu erhalten. Deshalb wurden drei Messungen mit unterschiedlich festgelegter Anzahl counts/view vorgenommen. Nach Berechnung der Soll-, Istwert-Abweichung konnte ein Vergleich der Präzision der Ergebnisse in Abhängigkeit des Wertes counts/view vorgenommen werden. Bei dieser Versuchsreihe wurde eine Aufsummierung der Einzelschichten des Phantoms mit dem Softwaretool *slice* vorgenommen. Die anschließende Auswertung der Floatbilder erfolgte allerdings nicht im Linuxbetriebssystem, sondern nach Import der Daten auf den Hermesrechner in *Multi Modality*. Beim Vorgang des Datenimportes wurde ein maximaler Pixelwert der Floatbilder von 30 000 festgelegt. Weiterhin wurde das Floatmaximum der einzelnen aufsummierten Phantombilder registriert. Mit Hilfe

dieser Werte wurde durch Dreisatz eine Korrektur des durch das Hermestool ermittelten *mean*-Wertes vorgenommen. Durch diesen Vorgang erhielten wir nun die auf das vorgegebene Floatmaximum normierten mittleren Pixelwerte. Die anschließende Multiplikation mit dem Skalierungsfaktor für 99m-Tc ergab die gewünschten Aktivitätskonzentrationen in kBq/ml. Signifikante Unterschiede konnten bei den Messkammern 6-8 erkannt werden, welche die geringsten Konzentrationen an 99m-Tc enthielten (Kammer 6: ca. 129,5 kBq/ml; Kammer 7: ca. 74 kBq/ml; Kammer 8: ca. 37 kBq/ml).

Die Messung A ergab für diese drei Kammern signifikante Fehlerwerte. Für Kammer 6 belief sich dieser Fehler auf ca. 37%, wohingegen die Soll-, Istwert-Abweichung in den Kammern 7 und 8 sogar über 80% betrug.

Auch Messung B zeigte für diese Kammern noch eine statistisch signifikante Soll-, Istwert-Abweichung. Allerdings konnte durch Verdopplung der cts/view Rate eine Reduktion der Fehlerwerte erzielt werden. Für Kammer 6 konnte ein Fehler von ca. 10% berechnet werden. Die Abweichungen in den Kammern 7 und 8 beliefen sich weiterhin auf ca. 55% bzw. ca. 25%.

Durch Steigerung der Countrate auf 600 kcts/view konnte bei Messung C eine weitere Reduktion der relativen Soll-, Istwert-Abweichung erreicht werden. Allerdings war auch die Aquisitionszeit um ein Vielfaches erhöht. Für Kammer 6 errechnete sich ein Fehler von nur noch ca. 2%. Auch bei den Kammern 7 und 8 konnten nun Fehlerwerte von ca. 15% erzielt werden.

4.2.5.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

A: Messung mit 30 kcts/view

Tab. 16

Kammer	Sollwert (Aktivimeter) absolut (kBq/ml)	Istwert <i>mean</i> - <i>Pixelcount</i>	Istwert absolut (kBq/ml)	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abweichung
1	3878,57	15710	3763,77	(-) 2,96	2370
2	1986,90	8198	1964,05	(-) 1,15	1699
3	1016,67	4326	970,10	(-) 4,58	3596
4	523,22	4049	515,11	(-) 1,55	100
5	268,35	2150	244,76	(-) 8,79	728
6	136,05	1514	85,66	(-) 37,04	591
7	68,65	217	12,28	(-) 82,12	591
8	34,73	84	4,76	(-) 86,31	378

B: Messung mit 60 kcts/view

Tab. 17

Kammer	Sollwert (Aktivimeter) absolut (kBq/ml)	Istwert <i>mean- Pixelcount</i>	Istwert absolut (kBq/ml)	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abwei- chung
1	3803,16	17722	3665,62	(-) 3,62	2138
2	1950,49	9024	1866,52	(-) 4,31	1134
3	998,05	7963	945,05	(-) 5,31	3.266
4	513,65	4569	479,04	(-) 6,74	788
5	265,88	3675	258,67	(-) 2,71	2709
6	133,40	2316	119,38	(-) 10,51	460
7	67,32	1087	36,10	(-) 54,96	1088
8	34,05	784	25,47	(-) 25,21	768

C: Messung mit 600 kcts/view

Tab. 18

Kammer	Sollwert (Aktivimeter) absolut (kBq/ml)	Istwert <i>mean- Pixelcount</i>	Istwert absolut (kBq/ml)	Soll-Ist- Abwei- chung (%)	Standard- abwei- chung
1	3639,85	20990	3542,49	(-) 2,67	1148
2	1864,61	20453	1784,41	(-) 4,30	2260
3	954,09	11246	1050,56	10,11	1980
4	491,02	10573	428,65	(-) 12,70	506
5	251,83	5290	226,04	(-) 10,24	358
6	127,65	4988	124,89	(-) 2,19	1276
7	64,43	3490	55,40	(-) 14,02	819
8	32,59	2677	38,76	18,93	206

4.2.5.3. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildungen des Phantoms

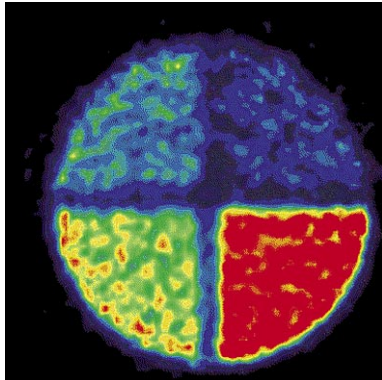


Abb. 43 A Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit hohen Aktivitätskonzentrationen (30 kcts/view)

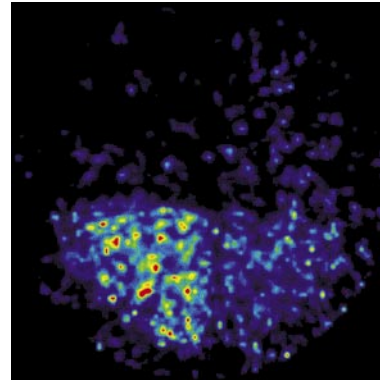


Abb. 44 A Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigen Aktivitätskonzentrationen (30 kcts/view)

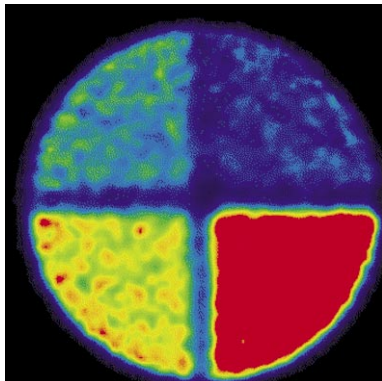


Abb. 45 B Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit hohen Aktivitätskonzentrationen (60 kcts/view)

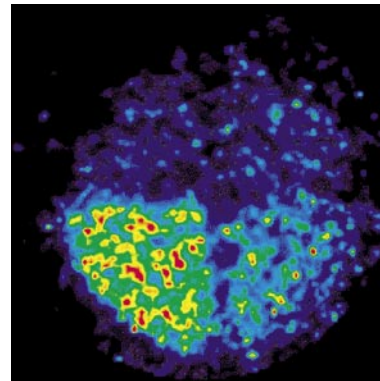


Abb. 46 B Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigen Aktivitätskonzentrationen (60 kcts/view)

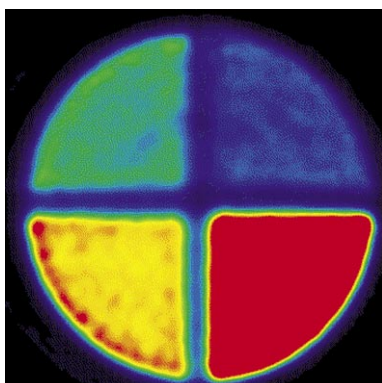


Abb. 47 C Horizontalschnitt durch den „oberen Teil“ mit hohen Aktivitätskonzentrationen (600 kcts/view)

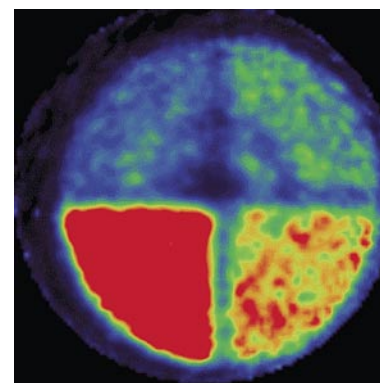


Abb. 48 C Horizontalschnitt durch den „unteren Teil“ mit niedrigen Aktivitätskonzentrationen (600 kcts/view)

4.2.5.4. Graphische Darstellung der Soll-, Istwert-Abweichung

A: Messung mit 30 kcts/vw

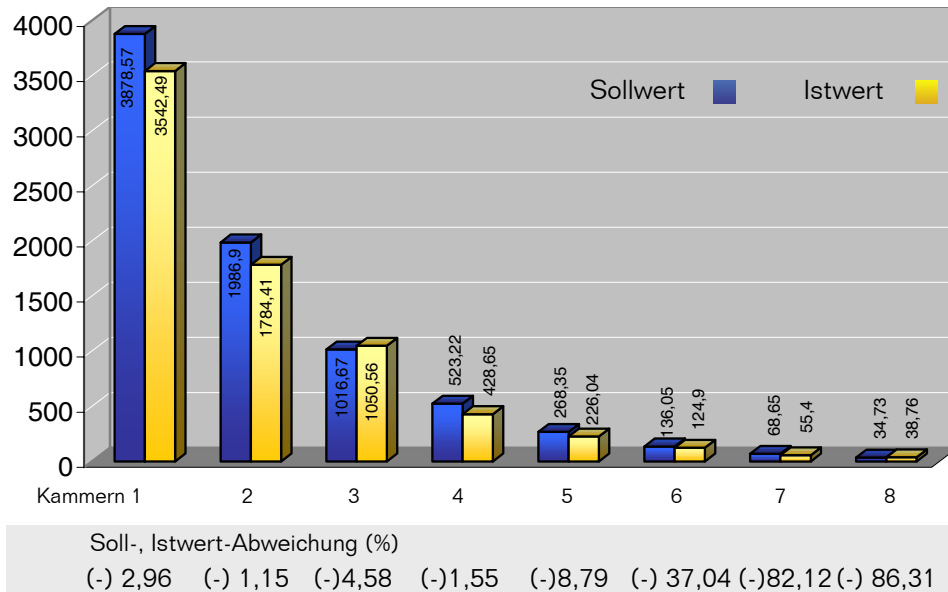


Abb. 49

B: Messung mit 60 kcts/vw

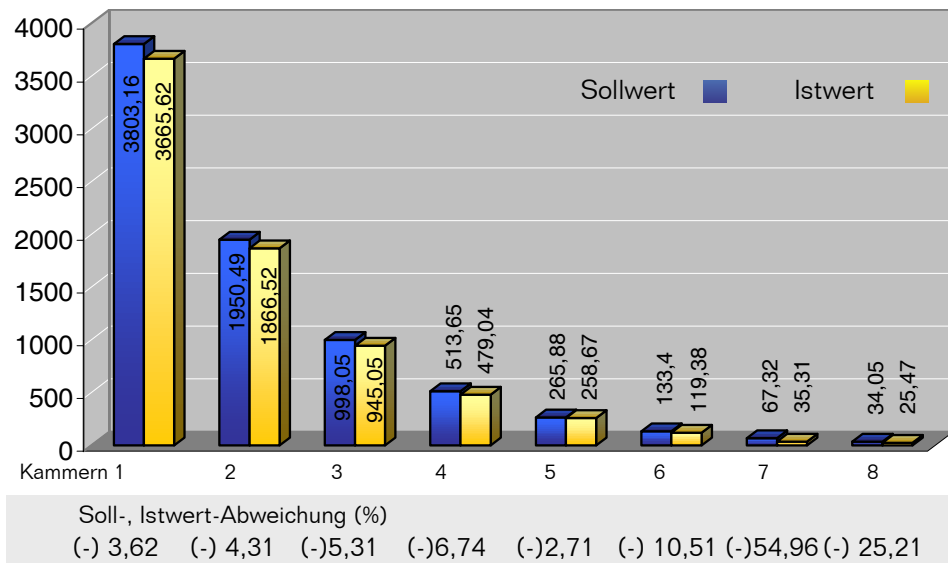


Abb. 50

C: Messung mit 600 kcts/vw

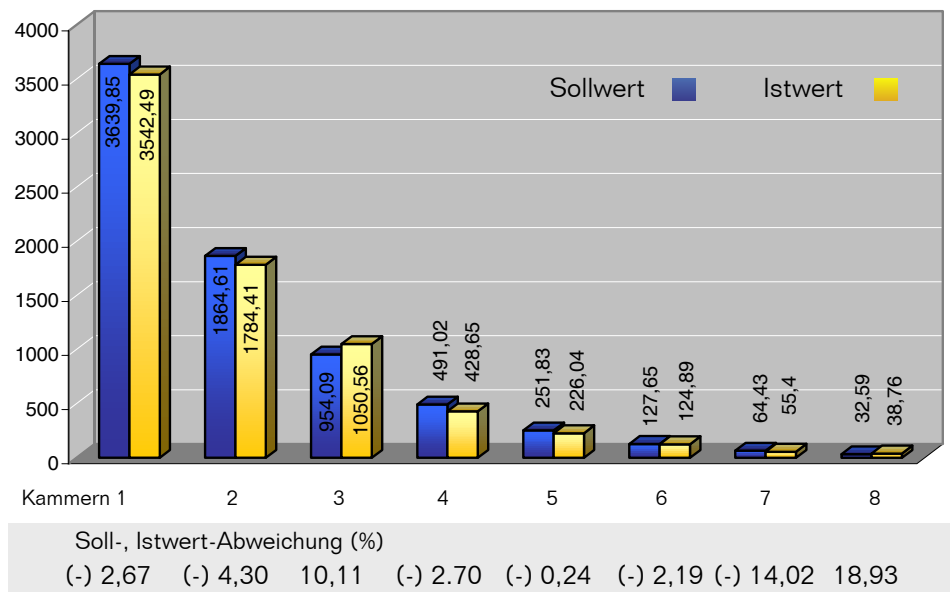


Abb. 51

4.3 In-vivo-Versuche

4.3.1. Versuch 1

4.3.1.1. Versuchsbeschreibung

Zur Ermittlung der Sollwerte der Aktivitätskonzentrationen erfolgte eine Messung der entnommenen Mausorgane, sowie dreier Standards und eines Leerwertes im Gamma-counter. Die Standards enthielten eine Aktivitätskonzentration von jeweils 9,25 MBq/5 μ l 99m-Tc-Gastrin. Den Mäusen wurde eine Aktivität von 18,5 MBq/100 μ l 99m-Tc-Gastrin in die Schwanzvene injiziert. Anschließend erfolgten eine MRT-Bildgebung sowie eine SPECT-Untersuchung des Tieres. Aufgrund der hohen Aktivitätsanreicherung in der Niere konnten korrekte Ergebnisse der Gammacounter-Messung erst nach Zerfall des Nuklids von einigen Tagen erzielt werden. Eine am darauffolgenden Tag erfolgte Messung wurde deshalb zwei Tage nach der SPECT-Untersuchung wiederholt. Eine signifikante Zählrate von 384 220 counts wurde nur in der Niere erzielt. Im Tumor wurden 7889 counts ermittelt. Für die anderen entnommenen Organe des Versuchstieres konnten keine signifikanten Zählraten erreicht werden, wobei diese im Mittel 491 betrugen. Zur Verdeutlichung der signifikant unterschiedlichen Verteilung der Aktivitätskonzentrationen in den diversen Organen erfolgte eine Berechnung der relativen Organaktivität. Mittels Division der Countrate durch den Mittelwert der Countrate der Standards erhielten wir die relative Aktivität des jeweiligen Organs in Prozent. Um die gewünschte relative Organaktivität in %/g zu erhalten, erfolgte weiterhin eine Division dieses Wertes durch die jeweilige Organmasse in Gramm. Auf diese Weise wurde eine relative Aktivität in den Nieren des Versuchstieres von ca. 45 %/g ermittelt. Im Gegensatz dazu enthielten die übrigen Organe Aktivitätskonzentrationen von nur maximal ca. 0,4 %/g.

Die SPECT-Untersuchung erfolgte 265,2 Minuten nach Applikation der Aktivität. Um die Präzision bei der Anlage der ROIs zu erhöhen wurde eine Überlagerung des SPECT-Bildes mit dem magnetresonanztomographischen Bild vorgenommen. Die anschließende Auswertung der rekonstruierten SPECT-Bilder erfolgte mit Hilfe des Tools *freehand* im Linuxbetriebssystem. Eine visuell sichtbare Aktivitätsanreicherung des 99m-Tc-Gastrins konnte nur in den beiden Nieren des Versuchstieres beobachtet werden. Die übrigen Organe stellten sich nicht optisch dar. Folglich wurde die Auswertung mittels ROIs auf die Nieren beschränkt. Da im Nierenbecken ebenfalls keine Aktivitätsanreicherung beobachtet werden konnte, wurden die Regions of Interest auf unterschiedliche Arten über die Nieren platziert: Eine Auswertung erfolgte sowohl nach Anlage der ROIs über den gesamten Organen inklusive der Nierenbecken, als auch nach Anlage der ROIs solitär über dem Nierenparenchym exklusive des Nierenbeckens.

Durch Division der absoluten Aktivität der Standards durch den mittleren Pixelcount der drei Standards erhielten wir die mittlere Aktivität in MBq/ct. Dieser Wert wurde anschließend mit der Countrate der Nieren multipliziert. Nach Division des erhaltenen Ergebnisses durch das Organgewicht der Nieren in Gramm, erhielten wir die gewünschte Gesamtaktivität der Nieren in MBq/ml bzw. nach Umrechnung in kBq/ml. Der Istwert wurde folgendermaßen durch die Ergebnisse der SPECT-Untersuchung errechnet: Es erfolgte eine Multiplikation des *mean-Pixelcounts* mit dem Skalierungsfaktor für 99m-Tc. Die Einheit der auf diese Weise erhaltenen Aktivitätskonzentration war ebenfalls kBq/ml.

Aufgrund der unzureichenden Organdarstellung durch das 99m-Tc-Gastrin, sowie der erhaltenen unzureichenden Ergebnisse des ersten Versuchstieres unterblieb die absolute Quantifizierung der applizierten Aktivität des zweiten Versuchstieres.

4.3.1.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der Gammacounter-Messung (Sollwerte)

Tab. 19

Organ	Organgewicht (g)	Relative Organkonzentration (% ID*/g)
Leber	1,23	0,24
Tumor	0,52	0,06
Herz	0,09	0,04
Lunge	0,13	0,07
Pankreas	0,06	0,11
Magen	0,02	0,41
Nieren	0,31	45,88
Darm	0,20	0,08
Muskel	0,12	0,04
Knochen	0,02	0,23

*ID= injizierte Dosis

4.3.1.3. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte)

A: ROIs randständig über den Nieren

Tab. 20

Organ	<i>mean-Pixelcount</i>	Standardabweichung
Niere	6,76	7,57

B: ROIs lokal über dem Nierenparenchym

Tab. 21

Organ	<i>mean-Pixelcount</i>	Standardabweichung
Niere	7,10	7,62

4.3.1.4. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse und der Soll-, Istwert-Abweichung

A: ROIs randständig über den Nieren

Tab. 22

Sollwert: Gesamtaktivität der Nieren (Gammacounter) (kBq/ml)	Istwert: Gesamtaktivität der Nieren (SPECT) (kBq/ml)	Soll-, Istwert-Abweichung (%)
4 243,49	233,54	94,501

B: ROIs lokal über dem Nierenparenchym

Tab. 23

Sollwert: Gesamtaktivität der Nieren (Gammacounter) (kBq/ml)	Istwert: Gesamtaktivität der Nieren (SPECT) (kBq/ml)	Soll-, Istwert-Abweichung (%)
4 243,49	245,31	94,22

4.3.1.5. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung der Mausnieren

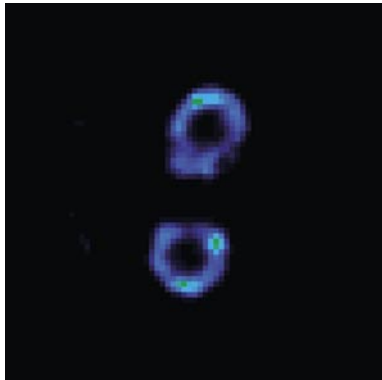


Abb. 52 Horizontalschnitt durch die Nieren des Versuchstieres

4.3.1.5. Graphische Darstellung der Ergebnisse

A: ROIs randständig über den Nieren

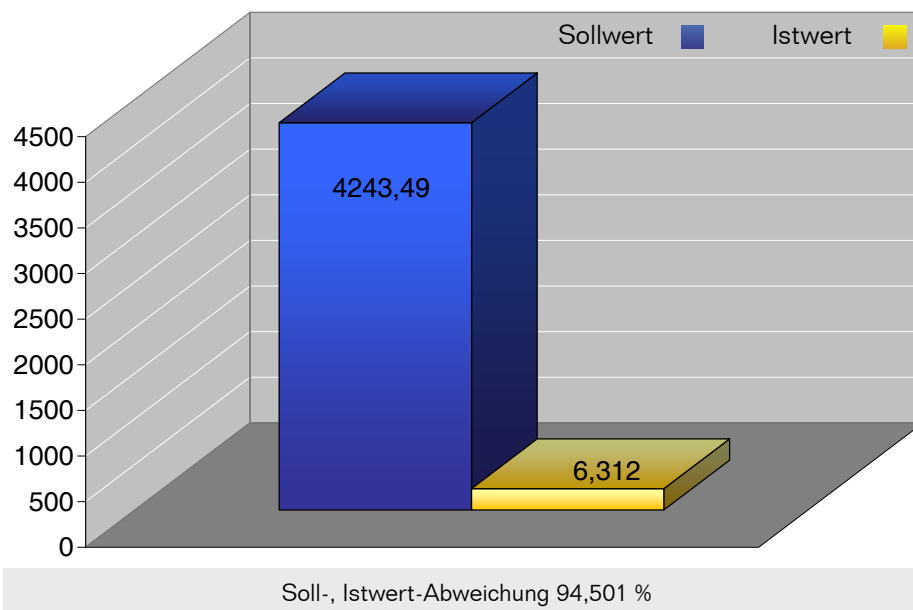


Abb. 53

B: ROIs isoliert über dem Nierenparenchym

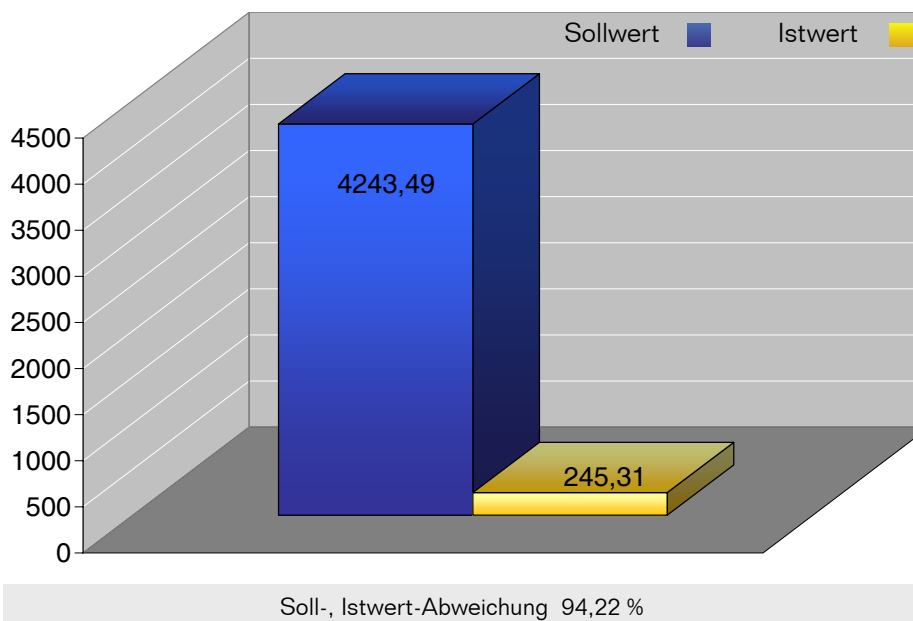


Abb. 54

4.3.2. Versuch 2

4.3.2.1. Versuchsbeschreibung

Es erfolgte eine Injektion von 37 MBq ¹¹¹In-Minigastrin in die Schwanzvene des Versuchstieres. Die Messung im Gammacounter beschränkte sich auf diejenigen Organe, in denen eine Anreicherung des ¹¹¹In-Minigastrins erwartet wurde: Niere, Milz, Gastrointestinaltrakt, Leber. Die Ermittlung der relativen Organaktivität in % ID/g erfolgte analog des ersten in-vivo-Versuchs. Mittels Dreisatz und dem Wissen der absoluten injizierten Dosis von 37 MBq erfolgte die Berechnung der absoluten Aktivitätskonzentration der Nieren in MBq/ml. Die Auswertung der rekonstruierten Daten der SPECT-Untersuchung erfolgte nach Import auf den Hermesrechner im *Multi Modality Tool*. Visuell konnte eine Aktivitätsanreicherung hier nur in den Nieren sowie in äußerst geringem Maße auch im Tumorgewebe des Versuchstieres erkannt werden. Aufgrund der gut sichtbaren Organgrenzen konnte auf eine Überlagerung des SPECT-Bildes mit einem MRT-Bild verzichtet werden. Auch hier wurde die absolute Quantifizierung der Aktivität deshalb nur für die Nieren vorgenommen. Die Anlage der ROIs erfolgte in jeder Schicht der sich optisch darstellenden Nieren separat. Der auf diese Weise durch das Softwaretool erhaltene *mean-Pixelcount* der Nieren wurde durch das Gesamtorganvolumen dividiert. Nach Multiplikation mit dem Skalierungsfaktor für ¹¹¹In erhielten wir den gewünschten Istwert der absoluten Organkonzentration der Nieren des Versuchstieres in kBq/ml.

4.3.2.2. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der Gammacounter-Messung (Sollwerte)

Tab. 24

Organ	Organgewicht (g)	Relative Organkonzentration (% ID*/g)
Nieren	0,64	55,49

*ID= injizierte Dosis

4.3.2.3. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse der SPECT-Untersuchung (Istwerte)

Tab. 25

Organ	<i>mean-Pixelcount</i>
Niere links	4 762 317
Niere rechts	8 575 892
Nieren gesamt	13.338.209

4.3.2.4. Tabellarische Darstellung der Ergebnisse und der Soll-, Istwert-Abweichung

Tab. 26

Sollwert: Gesamtaktivität der Nieren (Gammacounter) (MBq/ml)	Istwert: Gesamtaktivität der Nieren (SPECT) (kBq/ml)	Soll-, Istwert-Abweichung (%)
20,54	18,39	99,91

4.3.2.5. Graphische Darstellung: SPECT-Abbildung der Maus

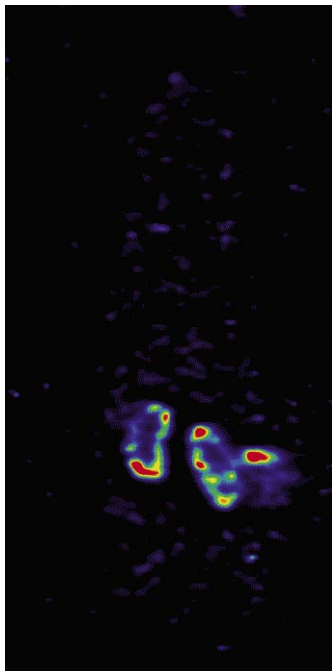


Abb. 55 Horizontalschnitt durch das Versuchstier

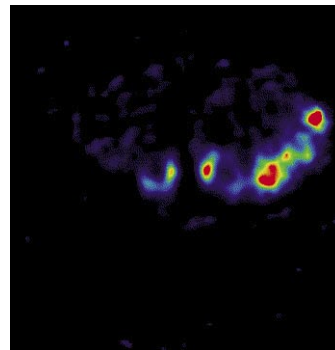
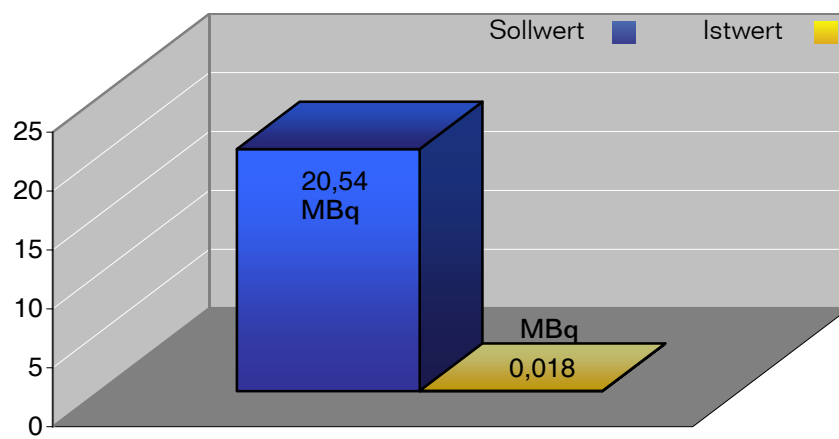


Abb. 56 Ausschnittsvergrößerung
Horizontalschnitt durch
Nieren und Tumor des
Versuchstieres

4.3.2.6. Graphische Darstellung der Ergebnisse



Soll-, Istwert-Abweichung 99,91 %

Abb. 57

5. Diskussion

5.1. Quantifizierung mit Hilfe nuklearmedizinischer Methoden

Konsens zum Thema der Quantifizierbarkeit einer Traceranreicherung mit Hilfe nuklearmedizinischer Methoden herrscht bisher nur bezüglich der PET, wobei die Quantifizierung hier allgemein anerkannt ist. Durch den bekannten Winkel von ca. 180 Grad der beiden Vernichtungsquanten mit einer Energie von je 511 keV ist eine absolute Quantifizierbarkeit mit hinlänglicher Sicherheit möglich, da sich der genaue Zerfallsort als Schnittpunkt aller Verbindungslinien koinzidenter Ereignisse bestimmen lässt und die Schwächung der 511 keV Quanten in menschlichem Gewebe vernachlässigt werden kann. Im Gegensatz hierzu ist die Frage nach der Quantifizierung der SPECT bis zum jetzigen Zeitpunkt ungeklärt. Da hier Gammaquanten einer Energie von z.B. 140 keV für ^{99m}Tc ungerichtet ausgesandt werden, erschien eine Quantifizierbarkeit mit dieser Methode schwer möglich, so dass aufgrund dieses Dogmas weitere Untersuchungen zu diesem Thema lange Zeit unterblieben.

5.2. Quantifizierung von SPECT-Aufnahmen

In der jüngeren Vergangenheit allerdings gab es Ansätze verschiedener Forschungsgruppen die vorherrschende These zum Thema der SPECT-Quantifizierung zu widerlegen. In mehreren Veröffentlichungen konnte bereits aufgezeigt werden, dass auch die SPECT die Möglichkeit zur relativen Quantifizierbarkeit mit unterschiedlichen Rekonstruktionsmechanismen und Radionukliden bietet (24). Die so genannte Semiquantifizierung wurde bisher vorwiegend bei Organuntersuchungen von Herz, Gehirn und Niere realisiert.

Hervorzuheben ist hierbei insbesondere die Darstellung und Quantifizierung der Dichte des präsynaptischen Dopamintransporters im Striatum mit Hilfe des Liganden und Kokain-Analogons 123-I-FP-CIT. Unter dem Namen DatSCAN®, welcher von der Firma Amersham Health Products vertrieben wird, findet die Methode bereits weite Verbreitung (40). Eine Innovation bietet dieses Verfahren durch die Möglichkeit der Diagnostik hinsichtlich der Grundkrankheit bei Tremorpatienten. Die Differenzierung zwischen essentiell Tremor und Tremor bei M. Parkinson kann durch den DatSCAN® erstmals mit ausreichender Sicherheit erfolgen (17).

Auch für die SPECT-Untersuchung des Myokards mit ^{99m}Tc -MIBI wurde die Möglichkeit der relativen Quantifizierung der regionalen Aktivität bereits publiziert. Mit Hilfe einer Farbkodierung erfolgt hierbei die Auswertung der Perfusion (18).

Hauptindikation zur Nierenzintigraphie ist die semiquantitative Erfassung eines einseitigen Nierenschadens z.B. durch Harnwegsobstruktion infolge Steinleidens oder bei Nierentumor. Als Tracer finden vorrangig 123-I-Ortho-Iod-Hippuran (OIH) oder ^{99m}Tc -Mercaptoacetyltriglycin (MAG-3) Verwendung (20).

Im Gegensatz zu diesen klinisch erprobten Verfahren wird die Möglichkeit der absoluten Quantifizierung mit Hilfe der SPECT von vielen Forschungsgruppen weiterhin kritisch beurteilt und konnte bis heute weder im in-vitro-Versuch, noch im in-vivo-Experiment signifikant nachgewiesen werden.

5.3. Diskussion der Ergebnisse

5.3.1. In-vitro-Versuche

5.3.1.1. Relative Quantifizierung

Aufgrund fehlender Erfahrung bei der Quantifizierung von SPECT-Untersuchungen trafen wir die Entscheidung, die Versuchsreihe mit einer Analyse relativer Aktivitätskonzentrationen zu beginnen und somit eine Grundlage für nachfolgende Quantifizierungen absoluter Konzentrationen zu schaffen. Auch war die notwendige Software zur Rekonstruktion und anschließender Auswertung absoluter Aktivitätskonzentrationen zu diesem Zeitpunkt noch nicht vorhanden. Um mögliche Fehlerquellen wie den Partialvolumeneffekt oder die Problematik der mangelnden Auflösung der SPECT-Untersuchung weitgehend auszuschließen, wurde im ersten Versuch ein Phantom mit nur vier relativ großen Messkammern gewählt.

Mit Hilfe des nachfolgenden Versuches wurde eine Vertiefung der Analyse relativer Aktivitäten angestrebt. Um den Sachverhalt tiefer zu beleuchten, wurde bei ebenfalls nur relativer Quantifizierung der Aktivitätskonzentrationen ein so genanntes Jaszczak-Phantom eingesetzt, welches die Problematik des Partialvolumeneffektes analysieren sollte.

Schon die relative Quantifizierung des ersten Phantoms ergab eine erstaunliche Übereinstimmung von Soll- und Istwert der Kammern A-D/E. Die Soll-, Istwert-Abweichung belief sich auf weniger als 1 %. Die Möglichkeit einer korrekten relativen Quantifizierung unter den zuvor beschriebenen Versuchsbedingungen im in-vitro-Experiment mittels SPECT konnte somit schon hier aufgezeigt werden.

Aufgrund der statistisch hervorragenden Ergebnisse der relativen Quantifizierung dieses Grundlagenversuches wurde die Entscheidung getroffen, die Versuchsanordnung in oben genannter Weise zu modifizieren. Die Analyse der Messwerte bestätigte das erwartete Inkrafttreten des Partialvolumeneffektes. Obgleich die Ergebnisse dieses Versuches nicht die Präzision des ersten erzielten, konnte eine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Soll- und Istwert bei maximaler Abweichung von ca. 16 % festgestellt werden.

5.3.1.2. Absolute Quantifizierung

Aufgrund der sehr guten Ergebnisse der Analyse relativer Aktivitätskonzentrationen konnten wir bereits nach diesen zwei Versuchen mit der Versuchsreihe zur Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen beginnen.

Das zum Einstieg in dieses Metier gewählte Vierkammer-Tortenphantom wurde ausgewählt, da die Einzelkammern ein relativ großes Volumen aufweisen. Die Auswertung erbrachte erstaunlich korrekte Ergebnisse, wobei sich die mittlere Soll-, Istwert-Abweichung auf Höchstwerte von ca. 9 % belief. Mit Hilfe dieses Versuches gelang es uns aufzuzeigen, dass eine absolute Quantifizierung mittels SPECT bei Konzentrationen bis zu 7,4 MBq ohne signifikanten Fehler möglich ist. Weiterhin konnte anhand dieses Versuches belegt werden, dass beobachtete Inhomogenitäten im Randbereich jeder einzelnen Messkammer, welche durch Adhäsionskräfte zustandekommen, nicht zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen. Nach Auswertung durch Anlage der ROIs inklusive des vermehrt anreichernden Randbereiches konnte, im Vergleich zu der Auswertung exklusive dieses Bereiches, sogar eine leichte Verbesserung der Ergebnisse beobachtet werden.

Mit Hilfe des nachfolgenden Versuches wurde die Methodik der absoluten Quantifizierung weiter vertieft. Des Weiteren sollte aufgezeigt werden, dass sich eine ebensolche Genauigkeit, wie sie in Versuch 3 erkannt wurde, auch mit geringeren Aktivitätskonzentrationen erzielen lässt. Im Vergleich zu den prozentualen Fehlerwerten des dritten Versuches konnte hier eine noch bessere absolute Quantifizierung erzielt werden. Im Mittel berechnete sich eine Abweichung zwischen Soll-, und Istwert von nur ca. 4,74 %. Auch die absolute Quantifizierung geringer Aktivitätskonzentrationen von bis zu ca. 0,2 MBq/ml konnte somit mit hervorragenden Ergebnissen nachgewiesen werden.

Aufgrund der statistisch exzellenten Ergebnisse der vorangegangenen Versuche, wurde eine weitere Reduktion der Aktivitätskonzentrationen in den einzelnen Messkammern vorgenommen. Aufgrund der bis auf ca. 32 kBq/ml reduzierten Konzentrationen und der somit nur sehr geringen Countrate von 30 kcts/view bei kurzen Aquisitionszeiten von nur ca. 9 Minuten wurden bei diesem Versuch zwei weitere Messungen mit verlängerten Aufnahmezeiten von 18 bzw. 180 Minuten durchgeführt. Wir erhofften uns, die Problematik der geringen Konzentrationen durch Festlegung der Countrate auf 60 bzw. 600 kcts/view bei verlängerter Aquisitionszeit zu egalisieren. Für die ersten 5 Kammern erzielten wir wiederum eine erstaunlich exakte Übereinstimmung von Istwert und Sollwert, bei allen drei Messungen. Leider bestätigte sich die erwartete Problematik hinsichtlich der sehr geringen Konzentrationen in den Messkammern 6-8 bei Counraten von 30 und 60 kcts/view. Eine signifikante Übereinstimmung konnte hier nicht beobachtet werden. Akzeptable Werte fanden sich wiederum bei der 600 kcts/view Messung. Unerwartet war eine höhere mittlere Soll-, Istwert-Abweichung für die Kammern 1-5 bei der Messung mit 600 kcts/vw. Er betrug hier 8,004 %. Bei den SPECT-Untersuchungen mit 60 kcts/vw bzw. 30 kcts/vw errechnete sich ein mittlerer relativer Fehler von 4,538 % bzw. 4,406 %.

Als Konklusion aus diesen Versuchen lässt sich die These formulieren, dass eine SPECT-Untersuchung die Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen des Nuklids ^{99m}Tc ermöglicht. An die Grenzen der Nachweisbarkeit stösst die Technik bei kleinsten Messvolumina oder extrem geringen Konzentrationen von ca. 65 kBq/ml. Letzgenannter Fall kann durch eine Verlängerung der Aquisitionszeit egalisiert werden.

5.3.2. In-vivo-Versuche

Aufgrund der hervorragenden absoluten Quantifizierungen in den oben dargestellten in-vitro-Experimenten sahen wir uns veranlasst, eine Versuchsreihe mit in-vivo-Experimenten zu initiieren. Trotz erschwelter Versuchsbedingungen im lebenden Organismus, wie z.B. Metabolisierung und Ausscheidung des Nuklids durch ablaufende Stoffwechselvorgänge oder einer erschwerten Darstellung von Organgrenzen, erwarteten wir auch hier gute Messergebnisse bei der absoluten Quantifizierung der Aktivität in den anreichernden Organen des Versuchstieres. Allerdings kamen in der SPECT-Abbildung nur die beiden Nieren sowie in äußerst geringem Maße auch der Tumor zur Darstellung. Eine sichere Abgrenzung der Organstrukturen war nur für die Nieren möglich, wohingegen sich die Tumorgrenzen schon nicht mehr sicher abbildeten. Die weiteren Organe des Tieres stellten sich aufgrund der zu geringen Aktivitätskonzentrationen im SPECT-Bild visuell nicht dar. Aus diesem Grunde wurde der Versuch einer absoluten Quantifizierung der Nuklidanreicherung auf die Nieren beschränkt. Es errechnete sich eine Soll-, Istwert-Abweichung von ca. 96 %. Dies entspricht einem Faktor von ca. 17. Aufgrund der größeren Erfahrungen mit dem Nuklid ^{111}In im in-vivo-Experiment und der relativ enttäuschenden Ergebnisse im ersten Versuch wurde der zweite Tierversuch mit diesem Nuklid durchgeführt.

Wie erwartet gelang eine Organdarstellung in diesem Fall wiederum in ausreichendem Maße nur für die beiden Nieren, welche nachfolgend ausgewertet wurden. Die erhoffte Präzisierung der Versuchsergebnisse blieb allerdings aus. Es errechnete sich eine Abweichung zwischen Soll- und Istwert von ca. 99,9 %, einem Faktor 1000 entsprechend.

Die Ergebnisse der in-vivo-Versuche ließen folgenden Rückschluss zu. Die Hypothese, bei diesen Versuchen ähnlich gute Ergebnisse wie in den in-vitro-Versuchen zu erzielen, ließ sich leider nicht verifizieren. Eine Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen konnte nicht mit ausreichender Signifikanz belegt werden und bedarf weiterer Versuche.

5.4. Diskussion der Fehlerquellen

5.4.1. Allgemeine Fehlerquellen

5.4.1.1. Messungenauigkeit des Aktivimeters

Schon bei den ersten in-vitro-Versuchen war es zu Auffälligkeiten während der Erstellung des Sollwertes mit Hilfe des Aktivimeters gekommen. Um eine höhere Signifikanz und Verminderung des Fehlers bei der Aktivimetermessung zu erreichen, wurden wiederholte Kontrollmessungen desselben Phantoms durchgeführt, welche in unmittelbarem Anschluss aneinander durchgeführt wurden. Obwohl bei diesen Kontrollen nur minimale Abweichungen der absoluten Aktivitäten zu erwarten waren, wurden signifikante Abweichungen registriert. Diese traten vor allem bei der Messung des bereits befüllten Phantoms oder größerer Spritzen (10 ml) im Aktivimeter auf. Deshalb stellten wir die Hypothese auf, dass es mit zunehmender Höhe des Objektes in der Messeinheit des Aktivimeters zu Messungenauigkeiten gekommen war.

Um dies zu verifizieren, führten wir zwei leicht variierte Versuche durch:

- Bei dem erstem Versuch wurde eine Kanülenhülle mit dem Nuklid ^{99m}Tc bis zu einer Höhe von 0,5 cm befüllt und anschließend auf unterschiedliche Höhen der Messeinheit des Aktivimeters von 0 bis 10 cm platziert. Untersucht wurden insgesamt 10 unterschiedliche Höhen. Auch hier waren nur minimale Abweichungen der Aktivität zu erwarten. Allerdings stellten wir fest, dass es mit zunehmender Füllhöhe des Aktivimeters zu einer signifikanten Reduktion der gemessenen Aktivität von bis zu ca. 6,73 MBq kam. Die Messung einer Spritzenhülle ergab für die Messhöhe 0 cm eine Aktivität von 14,13 MBq. Die Vermessung derselben Spritzenhülle in unmittelbarer Zeitnähe ergab allerdings bei einer Messhöhe von 10 cm eine Aktivität von 7,4 MBq. Dies entsprach einer Abweichung von ca. 52,36 %.
- Ein weiterer Versuch wurde mit einer 5 ml Spritze und zusätzlich aufgesetzter Nadel durchgeführt, um eine größere Höhe des Objektes zu erreichen. Der Abstand in der Aktivimetermesseinheit wurde deshalb vom oberen Rand her gemessen. Es wurden fünf unterschiedliche Höhen von 1,8 bis 5,1 cm untersucht. Als Nuklid wurde wiederum ^{99m}Tc eingesetzt. Obwohl auch hier nur von minimalen Abweichungen auszugehen war, da die Messungen unmittelbar nacheinander durchgeführt wurden, beobachteten wir wiederum signifikante Abweichungen der Aktivitätskonzentration. Die ursprüngliche Höhe von 1,8 cm ergab eine Aktivität von 96,57 MBq, wohingegen mit dem Abstand von 5,1 cm vom oberen Rand eine Aktivität von 109,89 MBq registriert wurde.

Zusammenfassend konnte beobachtet werden, dass mit zunehmender Füllhöhe der Aktivimetermesseinheit eine Reduktion der gemessenen Aktivität erfolgte. Vor allem bei der Messung gesamter Phantome größerer Höhen sind fehlerhafte Messungen des Sollwertes nicht auszuschließen.

5.4.1.1.1. Tabellarische Darstellung der Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe

A: Messung einer 5-ml-Spritze: Füllhöhe 0,5 cm, Nuklid: 99m-Tc

Tab. 27

Höhe vom Boden des Aktivimeters aus gemessen (cm)	Aktivität (MBq)
0	14,13 \pm 0,37
0,5	14,13 \pm 0,11
1,5	14,39 \pm 0,11
1,8	14,32 \pm 0,11
2,6	14,02 \pm 0,15
3,3	13,73 \pm 0,07
4,7	13,14 \pm 0,11
5,8	14,36 \pm 0,07
6,3	12,06 \pm 0,07
6,7	11,84 \pm 0,07
7,5	10,84 \pm 0,07
8	10,43 \pm 0,07
8,8	9,14 \pm 0,11
9,5	8,18 \pm 0,37
10	7,40 \pm 0,37

B: Messung einer 5-ml-Spritze mit aufgesetzter Nadel: Nuklid: 99m-Tc

Tab. 28

Höhe vom oberen Rand des Aktivimeters aus gemessen (cm)	Aktivität (MBq)
1,8	96,57 \pm 7,4
2,3	99,53 \pm 7,4
3,1	102,86 \pm 7,4
4,1	106,19 \pm 7,4
5,1	109,89 \pm 7,4

5.4.1.1.2. Graphische Darstellung der Messungenauigkeit des Aktivimeters in Abhängigkeit von der Füllhöhe

A: Messung einer 5-ml-Spritze: Füllhöhe 0,5 cm, Nuklid 99m-Tc

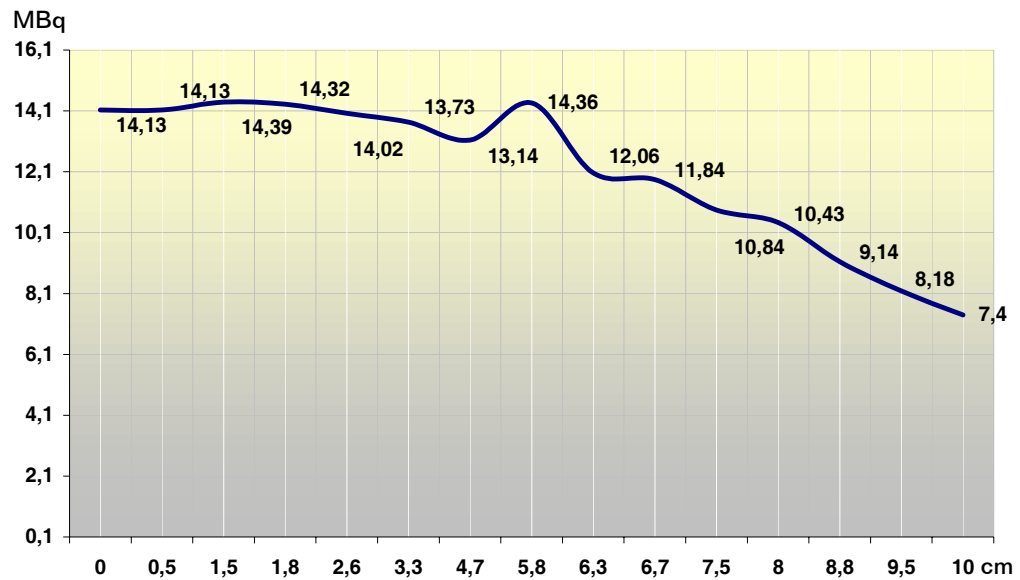


Abb. 58

B: Messung einer 5-ml-Spritze mit aufgesetzter Nadel: Nuklid 99m-Tc

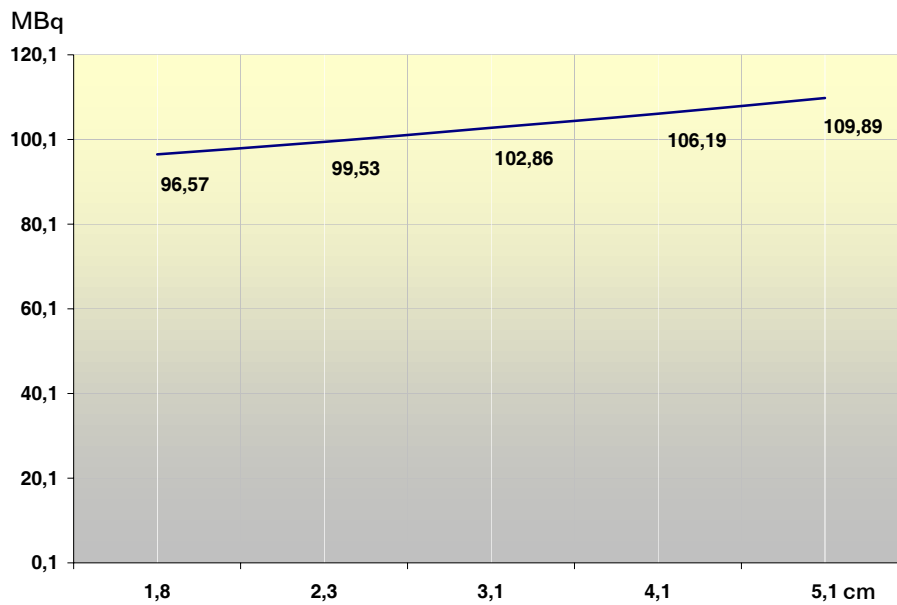


Abb. 59

5.4.1.2. Manuelle Erstellung der Regions of Interest

Obgleich die Erstellung von Regions of Interest vor allem im in-vivo-Versuch eine besondere Problematik im Sinne von mangelnder Abgrenzbarkeit der Organe barg, traten auch schon bei der Auswertung der in-vitro-Versuche Schwierigkeiten auf. Die manuelle Erstellung der ROIs konnte nicht in allen Fällen mit ausreichender Präzision durchgeführt werden. Die verwendeten Softwareprogramme sahen spezielle Verfahren zur Erstellung runder ROIs vor, weshalb diese durch den Computer mit hoher Präzision um Messkammern eines Phantoms gelegt wurden. Ein solches Phantom kam nur bei Versuch 1 zur Anwendung. Die Tortenphantome allerdings erlaubten keine automatische Erstellung der Regions of Interest. Durch die manuelle Zeichnung kam es zu Abweichungen der sich darstellenden Grenzflächen zwischen den einzelnen Kammern. In einigen Fällen wurde die Grenzfläche zu eng um die Kammer gelegt, so dass es zu einer Exklusion aktivitätshaltiger Areale kam. Auch der gegenteilige Sachverhalt mit Inklusion nicht speichernder Bereiche in die ROI wurde beobachtet.

5.4.1.3. Rekonstruktion

Der komplizierte Mechanismus der iterativen Rekonstruktion der SPECT-Daten barg diverse Fehlerquellen. Der in Anhang 3 exemplarisch dargestellte Ablauf des Rekonstruktionsverfahrens soll diesen Vorgang veranschaulichen sowie die diversen Fehlermöglichkeiten aufzeigen. Insbesondere die Erstellung eines Headers, die Änderung des Bildformates, sowie der Datentransfer von einem Rechner mit Linuxbetriebssystem auf einen Rechner mit Hermesbetriebssystem beinhalteten mannigfaltige Fehlerquellen. Oftmals konnte durch frühzeitiges Erkennen und Wiederholung des Vorganges der Fehler behoben werden, allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass unerkannte Fehler weiterhin bestehen blieben.

5.4.1.3.1. Exemplarischer Mechanismus der Rekonstruktion von SPECT-Daten: *Anlage 2 - ab Seite 93*

5.4.1.4. E-cam und Detektorsystem

Wie schon vielfach erwähnt besteht die Problematik des SPECT-Verfahrens in der mangelnden Auflösung. Selbst durch technisch modernste SPECT-Systeme konnte nur eine relativ geringe Verbesserung dieses Problems erzielt werden. Die Auflösung bleibt noch immer auf Werte um 1mm beschränkt. Weiterhin unzureichend bleibt die Nachweiswahrscheinlichkeit des in unserer Gruppe eingesetzten SPECT-Detektorsystemes für Gammastrahlung. Dies erklärt die Problematik der Quantifizierung geringer Aktivitätskonzentrationen. Wie auch durch unsere Versuchsreihe verifiziert werden konnte, war eine Quantifizierung bei Aktivitäten unter 111 kBq/ml (\cong ca. 3 μ Ci /ml) nur noch unter langen Aquisitionszeiten möglich. Auch hier zeigte sich allerdings noch eine Abweichung des Istwertes vom Sollwert, welcher zuvor im Aktivimeter gemessen wurde. Im Vergleich mit anderen Forschungsgruppen allerdings ist diese Nachweiswahrscheinlichkeit den meisten anderen zur Anwendung gebrachten Systemen weit überlegen.

5.4.1.5. In-vivo-Versuchsanordnungen

Im Gegensatz zu den durchgeführten in-vitro-Experimenten erwarteten wir im Umgang mit lebenden Objekten allgemeine Probleme. Von einer im Mittel höheren Soll-, Istwert-Abweichung konnte schon im Vorfeld ausgegangen werden. Allerdings konnten sich derart hohe Abweichungen, wie sie bei der Quantifizierung erzielt wurden, nicht allein auf diese erschwerten Voraussetzungen im in-vivo-Experiment zurückführen lassen.

- Eine Fehlerquelle bei der Untersuchung des lebenden Organismus besteht in dessen Physiologie. Durch ablaufende Stoffwechselvorgänge kommt es zu einer unterschiedlich starken Anreicherung der Nuklidaktivität in den diversen Organen des Versuchstieres. Eine massive Nuklidaktivität wird vor allem in dem eliminierenden Organ des Nuklids erwartet. Für das eingesetzte radioaktiv markierte Peptid Gastrin wurde eine hohe Aktivität in der Niere des Tieres erwartet, da die Elimination nahezu ausschließlich renal erfolgt. Allerdings war von einer beinahe solitären Darstellung der Nieren nicht auszugehen. Somit konnte eine Quantifizierung der Aktivität auch nur für diese Organe erfolgen. Ein Vergleich mit der Aktivität in den anderen Organen des Tieres konnte nicht erfolgen.
- Eine weitere Problematik bestand in der visuellen Abgrenzung der Organstrukturen, sowie der manuellen Anlage der Regions of Interest mittels Computermaus. Ein Fehler könnte, trotz Zuhilfenahme der MRT-Überlagerung, durch die unzureichende optische Darstellung und fehlerhafte Anlage der ROIs erfolgen. Geringe Aktivitätskonzentrationen befanden sich möglicherweise im Randbereich der Nieren, wobei diese geringen Konzentrationen allerdings nicht zur optischen Darstellung kamen und somit nicht in die Region of Interest integriert wurden. Weiterhin war die manuelle Umrandung des gewünschten Organs, um eine ROI zu erstellen, nicht immer exakt möglich. Bei der Verfolgung des Randbereiches der Organstruktur mit Hilfe der Computermaus waren in den meisten Fällen geringe Abweichungen vom Verlauf der Organgrenze entstanden. Somit resultierte sowohl eine Exklusion von bestimmten Teilen des Organs, welches Aktivität anreicherte, als auch eine Inklusion von Arealen, welche keine Aktivität anreicherten und deshalb nicht mehr dem gewünschten Organ zuzuordnen waren.

5.4.2. Spezifische Fehlerquellen

5.4.2.1. Geringe Aktivitätskonzentrationen

Wie vermutet bestand die Problematik in der absoluten Quantifizierung derjenigen Messkammern, welche nur eine geringe Countzahl/view erzielten, also mit äußerst geringen Aktivitätskonzentrationen befüllt waren. Beim daraufhin durchgeführten Versuch 5 konnte für Countraten von ca. 30 kcts/vw bei Konzentrationen von nur noch ca. 60 kBq/ml und weniger keine signifikante Übereinstimmung von Ist- und Sollwert mehr erzielt werden. Allerdings gelang es, durch Steigerung der Countrate eine Verbesserung dieser Werte zu erreichen. Wohingegen bei Countraten von ca. 60 kcts/vw noch keine ausreichende Verbesserung der Ergebnisse registriert werden konnte, gelang dies bei einer Steigerung der Countrate auf 600 kcts/vw. Eine befriedigende Abweichung zwischen Ist- und Sollwert von ca. 14 % konnte für oben genannte Konzentration in der Messkammer errechnet werden. Selbst bei geringsten Konzentrationen von nur noch ca. 32 kBq/ml konnte eine hinlängliche Soll-, Istwert-Abweichung von ca. 18,9 % gemessen werden. Die Problematik bei solch geringen Aktivitäten besteht in der Notwendigkeit langer Aquisitionszeiten, um ausreichende Countraten zu erreichen. Anhand dieses Versuches konkludierten wir, dass für Konzentrationen unter 37 kBq/ml des Nuklids ^{99m}Tc eine Datenaquisition mit einer minimalen Count-rate von 600 kcts/vw nötig ist, um ausreichende Messwerte zu erzielen. Für eine solche Messung muss eine Zeitspanne der SPECT-Untersuchung von mindestens zwei Stunden veranschlagt werden. Zusätzlich zu den erschwerten Bedingungen im in-vivo-Organismus, muss diese Problematik als weiteres Hindernis für den Einsatz des Multipinhole-SPECTs im klinischen Alltag gewertet werden. Beim lebenden Organismus werden SPECT-Untersuchungen mit langen Aquisitionszeiten, während derer eine Bewegung des untersuchten Objektes nicht tolerabel ist, nur bedingt Einsatz finden.

5.4.2.1.1. Graphische Darstellung der Ergebnisse Versuch 5 mittels Fehlerbalken

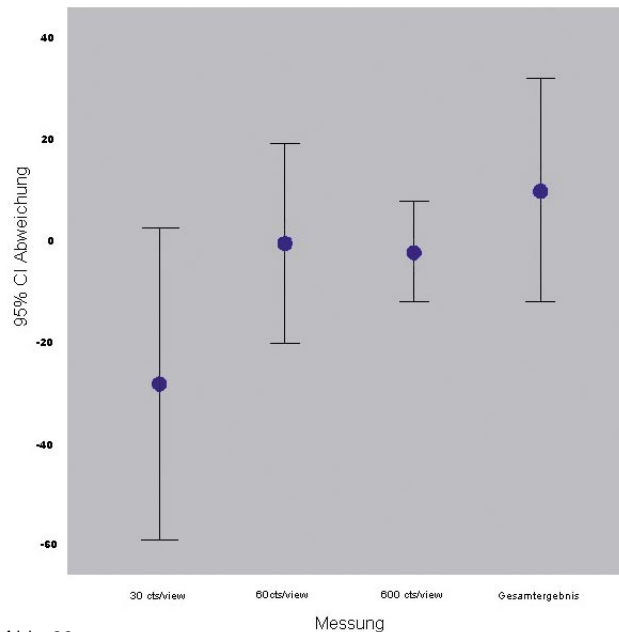


Abb. 60

5.4.2.2. Partialvolumeneffekt

Der so genannte Partialvolumeneffekt tritt bei Messungen von Aktivitätskonzentrationen in sehr geringen Volumina auf. Eine punktförmige Abbildung des Voxels findet nicht mehr statt. Mit abnehmender Größe des Volumens erfolgt statt dessen eine Verzerrung der Abbildung. Das kugelförmige Voxel stellt sich mit elliptischer Struktur dar. Um diesen Effekt näher zu beleuchten, wurde in Versuch 2 ein so genanntes Jaszczak-Phantom eingesetzt. Die Einzelbohrungen dieses Phantoms, welche zur Abbildung kommen sollen, weisen ein Volumen von nur 1,2-2,2 mm auf. Die beschriebene Problematik des Partialvolumeneffektes bestätigte sich in dem nachfolgend durchgeführten Versuch. Es wurden Abweichungen zwischen Soll- und Istwert von 13,2 % (Bereich 2) bzw. 16,8 % (Bereich 3) ermittelt. Die Schlussfolgerung dieses Versuches besteht demnach in der Verifizierung der Hypothese des Partialvolumeneffektes. Allerdings konnte bis zu einem Durchmesser der Einzelkammern von 1,8 mm eine befriedigende relative Quantifizierung nachgewiesen werden.

5.4.2.3. In-vivo-Versuchsanordnungen

5.4.2.3.1. Versuch 1

Neben allgemeinen Fehlerquellen bei der Durchführung von in-vivo-Versuchen existierten weitere mögliche Ursachen für die relativ hohen Fehlerquotienten, welche durch Mängel im Ablauf des Versuches aufgetreten waren. Nach Sektion des Versuchstieres wurde am darauf folgenden Tag eine Messung der Organe sowie der Standards im Gammacounter durchgeführt. Zweierlei Problematik wurde registriert:

- Bei Vermessung der drei Standards, welchen dieselben Aktivitätskonzentrationen appliziert wurden, wurde für die dritte Sonde eine wesentlich höhere Aktivität ermittelt als bei den Standards 1 und 2. Eine mögliche Erklärung bestünde in einem Messfehler des Gammacounters oder in einer fehlerhaften Pipettierung der Aktivität.
- Die Aktivität in den Nieren betrug zu diesem Zeitpunkt derart hohe Werte, dass eine korrekte Messung im Gammacounter noch nicht möglich war. Daraufhin wurde eine erneute Pipettierung dreier Standards, sowie eine erneute Messung der Organe nach weiteren 24 Stunden Zerfallszeit des Nuklids vorgenommen. Im Gegensatz zu den Vortagesmessungen zeigten sich nun keine signifikant auffälligen Fehler.
- Eine weitere mögliche Fehlerquelle könnte in der Abgrenzung der Organstrukturen bestehen. Aufgrund der nahezu solitären Darstellung der Nieren ohne Aktivitätsanreicherung in den benachbarten Organstrukturen, erschien eine Anlage der ROIs gut möglich. Eine Überlagerung mit einem ebenfalls durchgeführten MRT des Versuchstieres schien deshalb nicht von Nöten. Allerdings ist eine geringfügige Anreicherung in den Nachbarorganen der Niere nicht auszuschließen, weshalb eine fehlerhafte Anlage der Regions of Interest nicht ausgeschlossen werden kann.

5.4.2.3.1.1. Exemplarische Auswertung einer Gammacounter-Messung Anlage 3 - ab Seite 100

5.4.2.3.2. Versuch 2

Da sich eine Soll-, Istwert-Abweichung von ca. einem Faktor 1000 ergab, erstellten wir die Hypothese, dass sich bei der Berechnung dieses Wertes ein Fehler in den Einheiten der Aktivitätskonzentrationen ergeben hatte, da die Umrechnung des berechneten Istwertes in MBq/ml dem vorgesehenen Istwert mit hoher Genauigkeit entsprechen würde. Allerdings konnte nach mehrmaliger Prüfung des Rechenweges keine Verifizierung dieser Hypothese nachvollzogen werden.

Eine weitere Ursache der großen Soll-, Istwert-Abweichung könnte sich bei diesem Versuch auf den zusätzlichen Datentransfer auf den Rechner mit Hermesbetriebssystem belaufen, welcher bei dem vorangegangenen Versuch ausgeblieben war. Der beim Datentransfer festgelegte maximale Pixelcount musste Eingang in die Berechnung der Aktivitätskonzentration finden.

5.5. Ausblick

Durch die Möglichkeit der Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen mit Hilfe des Multipinhole-SPECT wird es in Zukunft möglich sein, entscheidende Fortschritte auf dem Gebiet der wissenschaftlichen Forschung sowie im klinischen Alltag zu erzielen. Obgleich im in-vitro-Experiment bislang hervorragende Ergebnisse erzielt werden konnten, bedarf es der Fortführung und Vertiefung der experimentellen Arbeiten.

Bei der durchgeführten in-vitro-Versuchsreihe konzentrierten wir uns auf die Quantifizierung des Nuklids ^{99m}Tc . Eine Weiterführung mit unterschiedlichen Nukliden wie z.B. ^{111}In soll den Nachweis erbringen, dass eine absolute Quantifizierung mit allen heute gebräuchlichen SPECT-Nukliden möglich ist. Des Weiteren sollte eine Vertiefung der Problematik vor allem bei der Quantifizierung geringer Konzentrationen sowie des Partialvolumeneffektes durchgeführt werden.

Die in-vivo-Versuche bedürfen allerdings noch einer detaillierten Abklärung und somit Fortführung der Versuchsreihe. Durch Optimierung der Versuchsbedingungen und des Rekonstruktionsmechanismus sollte eine Verminderung der genannten Fehlerquellen angestrebt werden. Auch diverse Variationen des eingesetzten Nuklids sowie des damit markierten chemischen Moleküls sollten vorgenommen werden. Eine Anreicherung in diversen Organen des Versuchstieres sollte angestrebt werden. Die SPECT-Quantifizierung könnte neben den ebenfalls vorhandenen Quantifizierungsmethoden Autoradiographie und Gammacounter-Messung zu Verfügung stehen. Dabei bietet die nuklearmedizinische Methode entscheidende Vorteile. Eine kontinuierliche Verfolgung von Stoffwechselvorgängen in nur einem Organismus wäre möglich. Eine Opferung unterschiedlicher Versuchstiere, wie sie bei der Autoradiographie oder der Gammacounter-Messung von Nöten war, um eine Verlaufsbeurteilung zu erzielen, wird somit entfallen. Weiterhin wird durch den Nachweis der absoluten Quantifizierbarkeit im Kleintier die Anwendung des SPECT auf dem Gebiet der Pharmakologie Einzug finden. Auch neuartige Anwendungsmöglichkeiten im klinischen Alltag bedürfen des Nachweises einer korrekten absoluten Quantifizierung im Kleintier. Sobald dieser Nachweis erbracht ist, soll das Multipinhole-SPECT bei der hochauflösenden Darstellung kleiner Strukturen des menschlichen Organismus zur Anwendung kommen. Ein Beispiel hierfür ist die Diagnostik einer fraglichen Mikrofraktur eines menschlichen Handwurzelknochens.

Um diese weiterführenden Zielsetzungen mit guten Ergebnissen zu erzielen, werden diverse Neuerungen beitragen, welche – durch verbesserte Nachweismöglichkeiten des Detektorsystemes für Gammastrahlung – hervorragende räumliche Auflösungen und infolgedessen wesentlich kürzere Aquisitionszeiten ermöglichen sollen:

- Mit Hilfe neuartiger Pinhole-SPECT-Systeme ist es mittlerweile möglich, eine Auflösung von ca. 1,7 mm zu erreichen. Eine Innovation im Bereich der Pinhole-SPECTs bildet das so genannte FASTSPECT. Dieses besteht aus 24 Gammakameras, welche in zwei zirkulären Reihen angeordnet sind. Jeder dieser Gammakameras ist wiederum ein Pinhole-Kollimator vorgeschaltet (22). Ein ähnliches System entstand mit dem U-SPECT. Der Aufbau dieses Systems besteht aus neun Ringen. Jeder dieser Ringe beinhaltet 20 Pinhole-Kollimatoren. Eine Auflösung im Submillimeterbereich wird für dieses Modell beschrieben (22). Die neueste Weiterentwicklung auf diesem Gebiet ist das so genannte U-SPECT-III. Das Design beinhaltet ein Set aus polygonal angeordneten Detektoren und einen zylindrischen Kollimator, welcher 135 in neun Ringen angeordnete Pinholes enthält. Jeder Ring wiederum beinhaltet 15 Gold-Pinhole-Aperturen, welche auf das Zentrum des Zylinders fokussieren.

Eine nicht überlappende Projektion wird für jede Apertur erzielt. Eine revolutionäre intrinsische Auflösung, besser als 150 μm wird erwartet. Im Vergleich zum bisher eingesetzten Dual-Pinhole-SPECT soll eine vierfach höhere lineare Auflösung sowie eine über 60fach gesteigerte volumetrische Auflösung ermöglicht werden. Eine Steigerung der Sensitivität um den Faktor 15-20 wird erwartet (2). Eine weitere Revolution war die Entwicklung so genannter Mikro-SPECT-Scanner. Diese sollen künftig ebenfalls Auflösungen von bis zu 1 mm erzielen. Im Vergleich mit diesen neuartigen SPECT-Systemen gelang unserer Arbeitsgruppe allerdings ebenso der Nachweis einer Auflösung im Submillimeterbereich, obwohl dieses System auf einer herkömmlichen klinischen Gammakamera basiert, welche mit einem Multipinhole-Kollimator ausgestattet wurde.

- Auch auf dem Gebiet der Informatik werden in Zukunft entscheidende Neuerungen Einzug finden. Durch weiterführende Entwicklungen auf dem Gebiet der Rekonstruktionsalgorithmen, könnten bessere Auflösungen der SPECT-Bilder resultieren. Erwähnenswert sind zu diesem Thema vor allem zwei Innovationen. Erstere besteht in der Entwicklung der Rekonstruktionsmethode des so genannten 3D-OSEM (three-dimensional ordered subsets expectation maximization) kombiniert mit der Nutzung von zweidimensionalem Datenmaterial. Eine signifikante Erhöhung der Auflösung und somit der Bildqualität wurde für dieses System beschrieben (41). Die zweite Innovation besteht in der Entwicklung eines neuartigen Bayesianischen Rekonstruktionsmechanismus PH-MRP (pinhole median root prior), durch welchen eine erhebliche Reduktion der Hintergrundaktivität erzielt werden kann. Vor allem Abbildungsfehler, welche durch die Rotation des schweren Kollimators entstanden sind, sollen mit Hilfe dieses Algorithmus vermieden werden. Alle durchgeführten Experimente zeigten keinerlei Formabweichungen des Objektes durch Rotationsartefakte. Durch den Einsatz dieses Rekonstruktionsverfahrens wurde eine erhebliche Verbesserung der finalen Bildqualität erzielt (36). Durch neuartig konstruierte Softwareprogramme sollen Fehler, welche z.B. durch die manuelle Anlage von Regions of Interest resultieren, vermieden werden.

6. Zusammenfassung

Subsummierend gelang es mit der hier vorliegenden Arbeit, die Möglichkeit der Quantifizierung sowohl relativer, als auch absoluter Aktivitätskonzentrationen des Nuklids ^{99m}Tc mittels SPECT-Untersuchung im in-vitro-Experiment aufzuzeigen. Zum Einsatz kam hierbei eine hochsensitive, hochauflösende Kamera der Firma Siemens (E-cam), welche mit unterschiedlichen Multipinhole-Kollimatoren ausgerüstet wurde. Die Versuchsreihe beinhaltete Experimente, welche unter unterschiedlichen Bedingungen im Versuchsaufbau, diversen Phantomen sowie differenzierten Aktivitätskonzentrationen durchgeführt wurden.

Neben der Bestimmung des Skalierungsfaktors für ^{99m}Tc wurden initial zwei Versuche mit nachfolgender relativer Quantifizierung der Aktivitäten durchgeführt. Hervorragende Ergebnisse mit Soll-, Istwert-Abweichungen von weniger als 1 % belegten die Möglichkeit zur exakten Quantifizierung. Des Weiteren gelang der Nachweis der Hypothese eines Partialvolumeneffektes bei der Verteilung der Aktivität auf kleine und kleinste Volumina, wobei hier ein leichtes Absinken der Präzision des Ergebnisses beobachtet wurde. Dennoch belief sich die Abweichung zwischen Soll- und Istwert auch bei minimalen Messvolumina auf lediglich ca. 15 %.

Um auch die Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen zu belegen, wurden drei weitere Versuche mit diversen Variationen durchgeführt. Es gelang eine sichere und präzise Quantifizierung unterschiedlicher Aktivitäten von ^{99m}Tc in verschiedenen Phantomen. Im Mittel erzielten wir auch hier hervorragende Ergebnisse mit Soll-, Istwert-Abweichungen von maximal ca. 9 %. An seine Grenzen stößt die absolute Quantifizierung bislang nur beim Nachweis sehr geringer Aktivitätskonzentrationen von ca. 60 kBq/ml und weniger, da hinreichende Countraten bei der SPECT-Aufnahme nur mit langen Aquisitionszeiten von mindestens zwei Stunden erreicht werden konnten.

Obleich auch zu Beginn der in-vivo-Versuchsreihe im Mausexperiment ähnlich gute Werte zu erhoffen waren, erzielten wir keine präzisen Ergebnisse. Eine Soll-, Istwert-Abweichung von einem Faktor 17 musste beim Versuch mit ^{99m}Tc -Gastrin registriert werden. Auch die erhoffte Verbesserung mit dem Nuklid ^{111}In blieb aus. Wir führten die hohen Abweichungen auf diverse allgemeine Fehlerquellen wie z.B. der manuellen Erstellung der Regions of Interest oder Fehler im Rekonstruktionsverfahren zurück. Auch die physiologischen Stoffwechselvorgänge des Versuchstiers sind im in-vivo-Experiment zu berücksichtigen. Weitere Problematik barg die Durchführung der Versuche im Einzelnen, wie z.B. die unsymmetrische Anreicherung der Aktivität in den Organen oder auch die Vermessung derjenigen im Gammacounter.

Durch die vorliegende Arbeit wird die entscheidende Grundlage für den Einsatz des SPECTs zur Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen unterschiedlicher Nuklide unter klinischen Bedingungen gelegt. Eine Weiterführung der in-vivo-Untersuchungen scheint jedoch aufgrund der vorliegenden Ergebnisse unabdingbar, um nachzuweisen, dass die Methode nicht nur im in-vitro-Experiment, sondern auch im lebenden Organismus Einsatz finden kann. Mit Hilfe technischer Innovationen, sowie neuartiger Errungenschaften auf dem Wissensgebiet der Informatik soll das Ziel der in-vivo-Quantifizierung absoluter Aktivitätskonzentrationen erreicht werden. Durch die Möglichkeit der Quantifizierung im Kleintierorganismus wird sich in naher Zukunft ein Wandel auf diesem Gebiet vollziehen. Auf die Opferung der Versuchstiere zur Anwendung der autoradiographischen Methode oder Messung der Organe im Gammacounter kann somit schon in naher Zukunft verzichtet werden. Ebenso wird die Möglichkeit der Verlaufskontrolle physiologischer bzw. pathologischer Stoffwechselvorgänge im Organismus des Versuchstieres entscheidende Fortschritte auf unterschiedlichen Gebieten der wissenschaftlichen Forschung – wie z.B. Pharmakologie – bewirken. Weiterhin Fernziel allerdings bleibt die Anwendung des Multipinhole-SPECTs unter klinischen Bedingungen im menschlichen Organismus. Die Darstellung und Quantifizierung geringster Aktivitätsveränderungen eines injizierten Nuklids unter pathologischen Stoffwechselkonditionen

wie z.B. Anreicherung von Tc-99m bei der Fraktur einer röntgenologisch nicht verifizierbaren Fraktur eines Handwurzelknochens wird eine Revolution in der klinischen Diagnostik bewirken. An technischen Neuerungen sind hier vorrangig die Entwicklungen des sogenannten FASTSPECTs, sowie des U-SPECTs zu nennen, welche beide als Weiterentwicklung des Pinhole-SPECTs zu beschreiben sind. Durch die Anwendung multipler Pinhole-Kollimatoren soll die Problematik der geringen räumlichen Auflösung des Systems behoben werden. Forschungsgruppen auf dem Gebiet der Informatik beschreiben eine ebenfalls revolutionäre Verbesserung der Auflösung durch neuartige Rekonstruktionsmechanismen, wie z.B. dem Bayesianischen Rekonstruktionsmechanismus PH-MRP (pinhole median root prior), oder dem sogenannten 3D-OSEM (threedimensional ordered subsets expectation maximization).

7. Literaturverzeichnis

1. Anger HO, *The Scintillation Camera*. Review of Scientific Instruments (1958), 29: 27-33
2. Beekman FJ, Vastenhouw B, *Design and simulation of a high-resolution stationary SPECT system for small animals*. Phys Med Biol (2004), 19: 4579-4592
3. Behr TM, Gotthardt M, Barth A, Behe M, *Imaging Tumors with peptide-based radioligands*. The Quarterly Journal of Nuclear Medicine (2001), 45: 189-200
4. Blasberg RG, Gelovani-Tjuvajeve *In-vivo Molecular-Genetic Imaging*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2003), 39: 172-183
5. Booij J, de Bruin K, de Win MML, Lavini C, den Heeten GJ, Habraken JBA, *Imaging of striatal dopamine transporters in rat brain with single pinhole SPECT and co-aligned MRI is highly reproducible*. Nuclear Medicine and Biology (2003), 30: 643-649
6. Bremer C, Weissleder R, *In-vivo Imaging of Gene Expression: MR and Optical Technologies*. Academic Radiology (2001), 8: 16-23
7. Contag C, Ross BD, *It's Not Just About Anatomy: In-vivo Bioluminescence Imaging as an Eyepiece into Biology*. Journal of Magnetic Resonance Imaging (2002), 16: 378-387
8. Costouros NG, Diehn FE, Libutti SK, *Molecular Imaging of Tumor Angiogenesis*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 72-78
9. Dayton PA, Ferrara KW, *Targeted Imaging Using Ultrasound*. Journal of Magnetic Resonance Imaging (2002), 16: 362-377
10. Fujibayashi Y, Furukawa T, Takamatsu S, Yonekura Y, *Molecular Imaging: An Old and New Field Connecting Basic Science and Clinical Medicine*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 85-89
11. Gillies RJ, *In-vivo Molecular Imaging*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 231-238
12. Haberkorn U, Altmann A, *Radionuclide Imaging in the Post-Genomic Era*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 1-10
13. Habraken JBA, de Bruin K, Shehata M, Booij J, Bennink R, Eck Smit BLF van, Busemann Sokole E, *Evaluation of High-Resolution Pinhole SPECT Using a Small Rotating Animal*. The Journal of Nuclear Medicine (2001), 42: 1863-1869
14. Herschman HR, *Non-Invasive Imaging of Reporter Genes*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 36-44
15. Hnatowich DJ, *Observations on the Role of Nuclear Medicine in Molecular Imaging*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 18-24
16. Hounsfield GN, *A method of and an apparatus for examination of a body by radiation such as X or gamma radiation*. The Patent Office London (1972), Patent Specification 1283915
17. [http://www.datscan.com/nuclear medicine physicians/spc.shtm](http://www.datscan.com/nuclear%20medicine%20physicians/spc.shtm)

18. http://www.-ibt.etec.uni-karlsruhe.de/vorlesungen/md_nukmed/maul/Einführung_6.pdf
19. **Ishizu K, Mukai T, Yonekura Y**, *Ultra-high Resolution SPECT System Using Four Pinhole Collimators for Small Animal Studies*. The Journal of Nuclear Medicine (1995), 36: 2282-2287
20. **Kaufmann GW, Moser E, Sauer R**, *Radiologie. 2. Aufl.* Urban und Fischer; München, Jena (2001)
21. **Keyes JW, Orleanda N, Heetderks WJ, Leonard PF, Rogers WL**, *The humongotron- the scintillation-camera transaxial tomograph*. The Journal of Nuclear Medicine (1977), 18: 381-387
22. **King MA, Pretorius PH, Farncombe T, Beekman FJ**, *Introduction to the Physocs of Molecular Imaging With Radioactive Tracers in Small Animals*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 221-230
23. **Mandl S, Schimmelpfennig C, Edinger M, Negrin RS, Contag CH**, *Understanding Immune Cell Trafficking Patterns Via In-vivo Bioluminescence Imaging*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 239-248
24. **Massoud TF, Gambhir SS** *Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light*. Genes & Development (2003), 17: 545-580
25. **Neeman M**, *Functional and Molecular MR-Imaging of Angiogenesis: Seeing the Target, Seeing it Work*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39:11-17
26. **Notaristefani F de, Pani R, Scopinaro F**, *First Results from a YAP: Ce Gamma Camera for Small Animal Studies*. Trans. Nucl. Sci. (1996), 43: 3264-3271
27. **Padhani AR**, *Dynamic Contrast-Enhanced MRI in Clinical Oncology: Current Status and Future Directions*. Journal of Magnetic Resonance Imaging (2002), 16: 407-422
28. **Pomper MG**, *Can Small Animal Imaging Accelerate Drug Development?*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 211-220
29. **Ritman EL**, *Molecular Imaging in Small Animals-Roles for Micro-CT*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 116-124
30. **Rowland DJ, Lewis JS, Welch MJ**, *Molecular Imaging: The Application of Small Animal Positron Emission Tomography*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 110-115
31. **Schramm NU**, *Entwicklung eines hochauflösenden Einzelphoton-Tomographen für kleine Objekte*. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Georg-August-Universität zu Göttingen. Göttingen 2000
32. **Schramm NU, Ebel G, Engeland U, Schurrat T, Behe M, Behr TM**, *High-Resolution SPECT using Multi-Pinhole Collimation* (2002)
33. **Sharma V, Luker GD, Piwnica-Worms D**, *Molecular Imaging of Gene Expression and Protein Function in-vivo with PET and SPECT*. Journal of Magnetic Resonance Imaging (2002), 16: 336-351

34. Siemens Aktiengesellschaft Engineering Group. Siemens Informationsmaterial e-cam
35. **Siemens Aktiengesellschaft Medical Engineering Group**, *The New Measure of Performance e-cam*. Quality system certified to ISO 9001.
36. **Sohlberg A, Lensu S, Jolkkonen J, Tuomisto L, Ruotsalainen U, Kuikka JT**, *Improving the quality of small animal brain pinhole SPECT imaging by Bayesian reconstruction*. Eur J Nucl Med Mol Imaging (2004), 7: 986-994
37. **Spence AM, Muzi M, Kroh KA** *Molecular Imaging of Regional Brain Tumor Biology*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 25-35
38. *What is Molecular Imaging?* <http://www.medical.siemens.com/webapp/wes/stores/servlet/PSGGenericDisplay>
39. **Wickline SA, Lanza GM**, *Molecular Imaging, Targeted Therapeutics, and Nanoscience*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 90-97
40. **Wilder Smith PA**, *Flourescence Emission-Based Detection and Diagnosis of Malignancy*. Journal of Cellular Biochemistry Supplement (2002), 39: 54-59
41. **Zenija T, Watanabe H, Aoi T, Kim KM, Teramoto N, Hayashi T, Sohlberg A, Kudo H, Iida H**, *A new reconstruction strategy for image improvement in pinhole SPECT*. Eur J Nucl Med Mol Imaging (2004), 8: 1166-1172

8. Anlagen

8.1 Anlage 1

Bediener		lfd. Nr.	
		Datum	
patient name		sonst. Bilder <input type="checkbox"/> MRT <input type="checkbox"/> CT <input type="checkbox"/> optisch	
PID (für Fusion)			
Organ			
Nuklid		Radiopharm.	
Aktivität <small>mCi / MBq</small>		Appl.-Form <small>i.v.</small>	
Aktiv.-Mess. <small>um Uhr</small>		Applik.-Zeit <small>um Uhr</small>	
Messprot. <small>pinhole SPECT</small>		<input type="checkbox"/> lebend <input type="checkbox"/> tot <small>seit Uhr</small>	
Acq. Name <small>a r z</small>		Cam. Preset	
View Name <small>Nr ***</small>		Start Zeit <small>um Uhr</small>	
Orientation <small>head in / prone (Bauchlage)</small>			
Detektor <small>1</small>		Zoom	
Frame <small>1</small>			
Shielding <small>1</small>			
Aperture			
Radius [cm]			
kurze Erläuterung von Sinn und Zweck der Studie / Bemerkungen			

Hinweise:

- **Neu:** Lfd. Nr. unbedingt auch im Feld **View Name** am **ICON-Rechner** eintragen
- **Unbedingt** alle defaults (kleine Schrift) prüfen und ggf. korrigieren
- Patient eintragen als "Objekt Studientyp" (z. B. Maus Tumor)
- **Acq. Name** als "lfd.Nr Aperture Radius Zoom" (z. B. **363a2r144z178**)
- Aperture 2, 8 & 9 nur mit **Radius 14,4 cm** fahren, Apt10 & 11 nur mit **Radius 12,9 cm**
- Aperture 2, 8 & 9 nur mit **Zoom 1,78** fahren, Apt10 & 11 nur mit **Zoom 1,45**

8.2. Anlage 2

Rekonstruktion e-cam (exemplarisch)

Datentransfer

Apple Rechner hochfahren

- Apple Zeichen
- Chooser
- Apple Share
- E-cam Aufnahme
- Pass: TEST
- Nuc. Med NT Server
- NT Pinhole

Messung lokalisieren: im Programm Icon Interfile

- Special: Export
- Icon e-cam Aufnahme
- Icon F
- Patients: (gewünschten auswählen)
- Patient neu benennen mit Aq.name
- Speichern unter: NT Pinhole (mit Apple C)
- Neuen Ordner anlegen und diesen mit Datum benennen (Bsp: 20040424)
- Patient dort speichern (Apple C)
- Icon Interfile beenden

Linux Rechner hochfahren

- unter Windows booten
- Explorer öffnen
- Extras
- Netzlaufwerk verbinden
- Durchsuchen (nach:)
- NukMed
- www-nukmed
- NT Pinhole
- Ordner erstellen auf G:\data nach Konvention: Lfd.Nr. AperturNr. Radionuklid
Studienbezeichnung Unterstrich Bearbeiter
(Beispiel: 355a11tc99mdoppeltorte_name)
- Daten kopieren in diesen Ordner

Linux Rechner unter Linux booten

- Benutzername
- Passwort
- Shell/Konsole öffnen
- cd _fat32/data
- in gewünschten Ordner wechseln
- nachsehen, ob neue Dateien als HDR oder IMG vorhanden sind
 - ls _/

Anlage 2 (Fortsetzung)

Datenvorbereitung

111-In Extrahieren des 171 keV Fensters, da nur 2. Fenster zur Bearbeitung nötig ist

- Beispiel
extract RETURN
Input (ushort): Dateiname der IMG-Datei
Header: 0
Dimension: 128
Anzahl Winkel: 60
Anzahl E-Fenster: 2
Extrahiere Fenster Nr. (0,1,...): 1 **Achtung**
Erste Projektion (0,1,...):0
Anzahl Projektionen 60
Output (ushort): Dateiname IMG-Datei (.IMG durch _171keV.IMG ersetzen)
Im Allgemeinen 2 Energiefenster im Zweifelsfall mit dv prüfen

I-123 Extrahieren des 159 keV Fensters da nur 1. Fenster zur Bearbeitung nötig ist

- Beispiel
extract RETURN
Input (ushort): Dateiname der IMG-Datei
Header: 0
Dimension: 128
Anzahl Winkel: 60
Anzahl E-Fenster: 4
Extrahiere Fenster Nr. (0,1,...): 1 **Achtung**
Erste Projektion (0,1,...):0
Anzahl Projektionen 60
Output (ushort): Dateiname IMG-Datei (.IMG durch _159keV.IMG ersetzen)
Im Allgemeinen 4 Energiefenster im Zweifelsfall mit dv prüfen

99m-TC Extrahieren nicht nötig da nur 1 Fenster

HDR-Datei bearbeiten, indem dos2unix Programm auf Ebene Datei-neu ausgeführt wird

- dos2unix Aq.name.HDR

Pre-, und Rec-Datei:

Suchen in schon vorhandenem alterRekoOrdner

In aktuellerRekoOrdner kopieren

- cp /alterRekoOrdner/*.txt

Anlage 2 (Fortsetzung)

pre-Datei auf aktuellenRekoOrdner anpassen:

- dafür Datei ggF. umbenennen, dann öffnen:
- emacs pre-Datei
- Abgleich mit den Daten des HDR-neu (in neuer shell öffnen):
- Anpassen:
 # Parameter für Import-Programm
 Name des Outputs: 355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_128x60_3p307_name.set
 Name des Inputs (ushort): 355a11r129z146.IMG

Größe des Headers [byte]: 0
 Breite der Bildmatrix [pix]: 128
 Höhe der Bildmatrix [pix]: 128
 Startwinkel [grad]: 0
 Winkelinkrement [grad]: 6
 Anzahl der Winkel: 60
Pixelgröße Bildmatrix [mm]: 3.307
Messdauer [min]: 43.689
Halbwertszeit [h]: 6.01
 Anzahl der Detektoren: 1
 Detektorfolge: (sequ.=0/altern.=1): 1

ByteOrdner ändern (nein=0/ja=1): 1
 Drehrichtung ändern (nein=0/ja=1): 1
 Axial flippen (nein=0/ja=1): 1
 Transaxial flippen (nein=0/ja=1): 1
 Hintergrund säubern (nein=0/ja=1): 1

Detektor 1, Floodmessung (ushort):
 ~/mpi/flood/20040516_307_intflo_m128_z145_99m-Tc.IMG
Detektor 1, Kalibrierungsparameter:
 ~/mpi/calib/cal_det1_99m-Tc_180504.txt
Detektor 1, Intrins. Auflösung [mm]: 3.7
Detektor 1, Angezeigter Rotationsradius [mm]: 129

pre-neu speichern: Strg-x, Strg-c, y Return

- Sicherungskopie löschen mit: rm*~
- pre-Datei ausführen: mpi_pre-Datei

Anlage 2 (Fortsetzung)

Rekonstruktion:

rec-Datei auf aktuellerRekoOrdner anpassen:

- dafür Datei ffG. umbenennen, dann öffnen:
- Abgleich mit den Daten des HDR-neu
- emacs rec-Datei
- Anpassen:

Parameter für Rekonstruktion

Stammname der Rekonstruktion:

355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_110x230_0p4_name

Name der Projektionen: 355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_128x60_3p307_name.set

Projektionen glätten (nein=0/ja=1): 1

Resolution-Recovering (nein=0/ja=1): 1

Degradierung in Projektionen [%]: 20

Dim. d. Reko Volumens [vox]: 110

Anzahl der Schichten [vox]: 230

Voxelgröße [mm]: 0,4

Volumen glätten (nein=0/ja=1): 1

Degradierung im Volumen [%]: 20

Speicherintervall: 11

Anzahl der Gruppen: 3

Gruppe 1, Größe der Subsets: 6

Gruppe 1, Anzahl der Iterationen: 5

Gruppe 2, Größe der Subsets: 10

Gruppe 2, Anzahl der Iterationen: 3

Gruppe 3, Größe der Subsets: 60

Gruppe 3, Anzahl der Iterationen: 3

Anzahl der Detektoren: 1

Detektor 1, PSF-Tabelle: ~/mpi/tab/tab_det1_ap11_99m-Tc_180504.txt

Detektor 1, Kalibrierungsparameter: ~/mpi/calib/cal_det1_99m-Tc_180504.txt

rec-neu speichern: Strg-x, Strg-c, y Return

- Sicherungskopie löschen mit: rm*~
- rec Datei ausführen: mpi_rec-Datei

Anlage 2 (Fortsetzung)

Datentransfer - „Hermes 1“

Bildformat ändern zu Interfile

- mpi2ifRETURN
- Anpassen:
 - Input (float): 355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_110x230_0p4_name.r1l
 - Header [byte]: 288
 - Byteorder ändern (nein=0, Ja=1): 1
 - Ushort-Maximum: 30000
 - Output (ushort): 355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_110x230_0p4_name.img
 - Achtung

Header (HDR) für die rekonstruierten Daten erstellen

- Suchen in schon vorhandenem alterRekoOrdner
- In aktuellerRekoOrdner kopieren:
 - cp.../alterRekoOrdner/355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_110x230_0p4_name.hdr
- Diese hdr-Datei auf aktuellerRekoOrdner anpassen:
- dafür Datei ggF. umbenennen, dann öffnen:
- Abgleich mit den Daten des Rohdaten-HDR-neu (in neuer shell öffnen)
- emacs hdr-Datei:

```

!INTERFILE: =
!imaging modality: =nucmed
!originating system: =SIEMENS
!version of keys: 3.3
date of keys: 1992:01:01
conversion program: =ICONInterfile
program author: =Siemens Medical Systems - Nuclear Medicine Group
program version: 2.01
program date: 1994:04:22
!GENERAL DATA:=
original institution: =UNKNOWN
contact person: =SMS Hotline - (800)873-3582
!data offset in bytes: =0
!name of datafile: =355_doppeltorte_99m-Tc_a11r35_110x230_0p4_name.img
patient name: Doppeltorte
!patient ID: 355a11r35name      (Lfd. Nr. AperturNr. Radius Bearbeiter)
      CAVE: Diese Zeile wie beispielhaft eingetragen benennen!
patient dob: =

```

Anlage 2 (Fortsetzung)

```
process label: = mpi
!number of energy windows: = 1
energy window [1]: = 99m-Tc
flood corrected: = Y
decay corrected: = Y
!SPECT STUDY (General): =
;number of detector heads in projection file: = 2
number of detector heads : = 1
number of images/energy window: = 230
!process status: = Reconstructed
!matrix size [1]: = 110
!matrix size [2]: = 110
!number format: = unsigned integer
!number of bytes per pixel: = 2
scaling factor (mm/pixel) [1]: = 0.4
scaling factor (mm/pixel) [2]: = 0.4
!number of projections: = 60
!extend of rotation: = 360
!time per projection (sec): = 43.689
study duration (sec): = 2621.340
!process status: = Reconstructed
!maximum pixel count: 30 000
patient orientation: = head_in
patient rotation: = prone
!SPECT STUDY (reconstructed data): =
method of reconstruction: = iterative
!number of slices: = 230
slice orientation: = Transverse
slice thickness (pixel): = 1
centre-centre slice separation (pixel): = 1
z-axis filter: = none
method of attenuation correction: = none
method of scatter correction: = Unknown
oblique reconstruction: = N
!END OF INTERFILE: =
• Nach erfolgter Datenkorrektur mit Strg-x, Strg-c, y RETURN abspeichern
• Sicherungskopie löschen mit: rm*~
```

Anlage 2 (Fortsetzung)

Header/Image (HDR/IMG) - Transfer auf Rechner „Hermes1“ mittels FTP Programm (file transfer protocol)

- ftp hermes1
- Name: hermes
- Passwort: TEST
- cd/data/if:import
- !dir
- bin (Wechsel in den Bild-Binärmodus)
- put img-Name (Rekonstruierte Daten)
- ascii
- put hdr-Name
- quit

8.3. Anlage 3

13 Sep 2003 09:00 Packard Instrument Company Page #1
 Protocol #1 99m-Tc 1 min User:

Count Time (minutes): 1.00
 Assay Type: CPM
 Background Subtract: Manual
 Outlier: 5.0 Flag
 Screening: OFF

Window A
 Nuclide: MAN 120-160 keV
 Bkg: 0.00
 gma: 1.00
 LCR: 0
 Half Life (hours) 0.00
 Multiplier: 1.0000
 %CV Flag Limit: 0.00

S#	A:CPM	A:%ERR	B:CPM	B:%ERR	A>Error	CCPM	RESULT	PAT/ID
1	7889.0	1.13	0.0		7889.00		SAMPLE	1
2	822.0	3.49	0.0		822.000		SAMPLE	2
13 MISSING TUBE (S)								
16	6634.0	1.23	0.0		6634.00		SAMPLE	16
17	1144.0	2.96	0.0		1144.00		SAMPLE	17
13 MISSING TUBE (S)								
31	103.0	9.85	0.0		103.000		SAMPLE	31
32	242.0	6.43	0.0		242.000		SAMPLE	32
33	232.0	6.57	0.0		232.000		SAMPLE	33
34	323.0	5.56	0.0		323.000		SAMPLE	34
35	2005.0	2.23	0.0		2005.00		SAMPLE	35
36	384220	0.72	0.0		384220		SAMPLE	36
37	439.0	4.77	0.0		439.000		SAMPLE	37
38	131.0	8.74	0.0		131.000		SAMPLE	38
39	122.0	9.05	0.0		122.000		SAMPLE	39
6 MISSING TUBE (S)								
46	98.0	10.1	0.0		98.000		SAMPLE	46
47	215.0	6.82	0.0		215.000		SAMPLE	47
48	375.0	5.16	0.0		315.000		SAMPLE	48
49	775.0	3.59	0.0		775.000		SAMPLE	49
50	1369.0	270	0.0		1369.00		SAMPLE	50
51	272000	0.86	0.0		272100		SAMPLE	51
52	815.0	3.50	0.0		815.000		SAMPLE	52
53	390.0	5.08	0.0		390.000		SAMPLE	53
54	92.0	10.4	0.0		92.000		SAMPLE	54

Anlage 3 (Fortsetzung)

13 Sep 2003 08:56 Packard Instrument Company Page #1
 Protocol #1 99m-Tc 1 min

Count Time (minutes): 1.00
 Assay Type: CPM
 Background Subtract: Manual
 Outlier: 5.0 Flag
 Screening: OFF

Window A
 Nuclide: MAN 120-160 keV
 Bkg: 0.00
 gma: 1.00
 LCR: 0
 Half Life (hours) 0.00
 Multiplier: 1.0000
 %CV Flag Limit: 0.00

S#	A:CPM	A:%ERR	B:CPM	B:%ERR	A>Error	CCPM	RESULT	PAT/ID
1	173.0	7.60	0.0		173.000		SAMPLE	1
2	308380	0.81	0.0		308380		SAMPLE	2
3	224500	0.94	0.0		224500		SAMPLE	3
4	265280	0.87	0.0		265280		SAMPLE	4

Meine akademischen Lehrer waren folgende Damen/Herren

in Marburg:

Arnold, Bach, Barth, Basler, Baum, Becker, Behe, Behr, Bertalanffy, Christiansen, Daut, Efe, Eilers, Feuser, Geus, Grebe, Griss, Gotthardt, Gotzen, Gudermann, Happle, Hellinger, Heinze, Hesse, Hofmann, Jungclas, Kern, Klenk, Kolodziej, Koolmann, Krieg, Kroll, Lang, Maisch, Miller, Moll, Mutters, Oertel, Remschmidt, Renz, Schäfer, Schmidt, Schurrat, Steininger, Sure, Vohland, Voigt, Werner, Westermann, Wulf.

in Sursee (Schweiz):

Frey, Schmassmann

in Singapur:

Ng Chung Fai, Wong

in Schwalmstadt:

Becker, Lange

Danksagung

Für die Überlassung des Themas möchte ich Herrn Prof. Dr. med. T. M. Behr herzlich danken. Für die hilfsbereite, motivierende und nette Betreuung, sowie die wertvollen Hinweise zum Fortgang der Arbeit möchte ich mich besonders bei Herrn Dr. rer. nat. M. Behe und Herrn Dr. rer. nat. T. Schurrat bedanken.

Weiterhin danke ich dem Team der Klinik für Nuklearmedizin des Universitätsklinikums Marburg für die Beratung und Rücksichtnahme bezüglich der Nutzung der Siemens e-cam.

Meinem Vater, Herrn Manfred Kuhnt, sowie Herrn Peter Sperlich danke ich für die stilistische Beratung und Unterstützung zur Fertigstellung der Arbeit. Bei meiner Mutter, Frau Gabriele Kuhnt bedanke ich mich im Besonderen für die graphische Gestaltung der vorliegenden Dissertation.